

Instructions for use

Bordetella ELITe MGB® Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN



REF RTS140ING

UDI 08033891486785

CE
0123

IVD

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Rev.	Aviso de alteração	Data (dd/mm/aa)
06-R	Atualização da embalagem do tubo de PCR Mix (parágrafo “Materiais fornecidos no produto” Atualização do parágrafo “Outros produtos necessários” Atualização do parágrafo “Notificação para os utilizadores”	08/09/25
05-R	Atualização do parágrafo “Símbolos” com o símbolo “Consulte as instruções de utilização” Atualização do parágrafo “Nota para o adquirente: licença limitada”	24/03/25
04-R	Utilização alargada no instrumento ELITE BeGenius automatizado e integrado com matrizes de aspirado nasofaríngeo. Novos gráficos e definição de conteúdos das instruções de utilização.	31/10/24
03-R	Atualização após revisão do NB	12/06/23
02-R	Atualização para conformidade com o Regulamento (UE) 2017/746 em matéria de requisitos de dispositivo médico para diagnóstico in vitro (IVDR).	19/01/23
00-02	desenvolvimento de novo produto e alterações subsequentes	—

NOTE

Os lotes de produtos identificados pelos seguintes números de LOTE continuam disponíveis no mercado em virtude do IVDR até às suas datas de validade, de acordo com o Artigo 110 de IVDR. Caso esteja na posse desses lotes de produtos, contacte a equipa ELITechGorup para solicitar a revisão anterior das instruções de utilização.

REF. PRODUTO	Número de lote	Data de expiração
RTS140ING	U0224-095	28/02/26
RTS140ING	U0524-028	28/02/26
RTS140ING	U0824-001	31/07/26

Os lotes de produto de Positive Control continuam disponíveis no mercado em virtude do IVDR (identificados pelos números de LOTE indicados nas instruções de utilização do Positive Control) são tecnicamente compatíveis com a nova versão IVDR do kit de amplificação e podem ser utilizados, até ao seu esgotamento, em associação com a nova versão IVDR do kit de amplificação e de acordo com a utilização prevista.

ÍNDICE

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA	4
2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO	4
3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO	4
4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO	5
5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	5
6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	5
7 AVISOS E PRECAUÇÕES	6
8 AMOSTRAS E CONTROLOS	7
9 PROCEDIMENTO ELITE InGenius	9
10 PROCEDIMENTO do ELITE BeGenius	14
11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	18
12 REFERÊNCIAS	27
13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	27
14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	28
15 SÍMBOLOS	30
16 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES	31
17 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	31
Appendix A QUICK START GUIDE	32

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **Bordetella ELITE MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio de PCR em tempo real de ácidos nucleicos multiplexado e qualitativo para a deteção e identificação do ADN genómico de ***Bordetella pertussis* (BP)**, ***Bordetella parapertussis* (BPP)** e ***Bordetella holmesii* (BH)**, extraído de amostras clínicas.

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

O produto está previsto para utilização como auxiliar no diagnóstico de infeções respiratórias *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii*, em pacientes com suspeita de infeção por *Bordetella*.

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

2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio é uma deteção qualitativa de PCR em tempo real de ADN de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii* isolado de amostras e amplificado num PCR em tempo real usando o reagente de ensaio **BORD 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 o **ELITE BeGenius** monitoriza o aumento da fluorescência e calcula o ciclo de limiar (Ct).

Nas sondas ELITE MGB, os fluoróforos são extintos 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 **Bordetella ELITE MGB Kit** fornece o reagente do ensaio **BORD PCR Mix**, uma mistura de PCR otimizada e estabilizada que contém os primers e sondas específicos para:

- a sequência repetida **IS481** de *B. pertussis* e *B. holmesii*, detetada no canal **IS481**; a sonda é estabilizada pelo MGB, extinto por uma porção não fluorescente e marcado com o corante FAM,
- o promotor do gene **ptxA** de *B. pertussis*, detetado no Canal **BP**, a sonda é estabilizada por MGB, extinto por uma porção não fluorescente e marcado com o corante AquaPhluor® 639 (AP639),
- o gene **recA** de *B. holmesii*, detetado no Canal **BH**, a sonda é estabilizada pelo MGB, extinto por uma porção não fluorescente e marcado com o corante AquaPhluor 690 (AP690),
- a sequência repetida **IS1001** de *B. parapertussis*, detetada no canal **BPP**; a sonda é estabilizada pelo MGB, extinto por uma porção não fluorescente e marcado com o corante AquaPhluor 593 (AP593),
- o Internal Control (**IC**), específico para a sequência artificial **IC2**, detetado no Canal **IC**; a sonda é estabilizada pelo MGB, inativado por uma porção não fluorescente e marcado com o corante AquaPhluor 525 (AP525).

A **BORD PCR Mix** também contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido, os estabilizadores e ADN polimerase de início a quente.

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

O **Bordetella 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
BORD PCR Mix ref. RTS140ING	Mistura de reagentes para o tubo de PCR em tempo real com tampa NATURAL	8 x 280 µL	-

5 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 (~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 parafuso esterilizados de 2,0 mL (Sarstedt, ref. 72.694.005).
- Tubos com tampa de parafuso esterilizados de 0,5 mL (Sarstedt, ref. 72.730.005).
- Água de grau de 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
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030). Software ELiTe InGenius versão 1.3.0.19 (ou mais recente). BORD ELiTe_PC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control. BORD ELiTe_NC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control. BORD ELiTe_NPA_200_100 protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de aspirado nasofaríngeo.	Bordetella - ELiTe Positive Control (EG SpA, ref. CTR140ING). CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTRCPE). ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200) Consumíveis do ELiTe InGenius e ELiTe BeGenius (ver instruções de utilização do ELiTe InGenius e do ELiTe BeGenius)
ELiTe BeGenius (EG SpA, ref. INT040). Software ELiTe BeGenius versão 2.3.0 (ou mais recente). BORD ELiTe_Be_PC , Protocolo de Ensaio com parâmetros para análise do Positive Control. BORD ELiTe_Be_NC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control. BORD ELiTe_Be_NPA_200_100 protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de aspirado nasofaríngeo.	

7 AVISOS E PRECAUÇÕES

Este produto foi concebido para utilização exclusiva in-vitro.

7.1 Avisos e precauções gerais

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

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

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

Nunca deve pipetar soluções com a boca.

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

Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.

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

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

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

Não utilize o produto após a data de validade indicada.

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

Não use reagentes de lotes diferentes.

Não use reagentes de outros fabricantes.

7.2 Avisos e precauções para biologia molecular

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

São necessárias batas de laboratório, luvas e ferramentas para preparação da sessão de trabalho. 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 da extração têm de ser manuseados com vista a impedir a dispersão no meio ambiente e a evitar a contaminação da área de trabalho do instrumento.

A PCR Cassette deve ser manuseada com cuidado e nunca deve ser aberta, para evitar a difusão e a contaminação por transferência.

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)
BORD 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
Aspirado nasofaríngeo	-	≤ 2 dias	≤ 7 dias	≤ 1 mês	> 1 mês

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

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 Bordetella ELITE MGB Kit

Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Aspirado nasofaríngeo	ELITE InGenius	BORD ELITE_NPA_200_100	Positivo / Negativo	Volume de entrada da extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicção: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITE BeGenius	BORD ELITE_Be_NPA_200_100		

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

NOTE

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

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

Consulte "Substâncias Potencialmente Interferentes" na secção [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO](#) [page 18](#) 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 **Bordetella - ELITE Positive Control** (não fornecido com este kit) com os protocolos de ensaio **BORD ELITE_PC** ou **BORD ELITE_Be_PC**.
- Para o Negative Control, utilize água de grau biológico molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio **BORD ELITE_NC** ou **BORD 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 **Bordetella 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 **Bordetella ELiTe MGB Kit** pode ser usado no **ELiTe InGenius** para realizar:

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

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

NOTE

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

Antes de configurar uma execução:

Descongele os tubos **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	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".
4	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.
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.

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])
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 **Bordetella 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 dos resultados do Positive Control e Negative Control da amplificação

O **ELITE InGenius software** interpreta os resultados da PCR para os alvos das reações de Positive Control e Negative Control com os parâmetros dos protocolos de ensaio **ELITE_PC** e **ELITE_NC**. Os valores de Ct resultantes são convertidos em concentrações e usados para validar o sistema (lote de reagente e instrumento).

Os resultados do positive control e negative control, específicos para o lote de reagente de PCR usado, são registados na base de dados (Controlos). Podem ser visualizados e aprovados pelos utilizadores “Administrator” (Administrador) ou “Analyst” (Analista), seguindo as instruções na GUI.

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

Os resultados da amplificação do Positive Control e do 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 do Positive Control e Negative Control não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem “Failed” (Reprovado) no ecrã “Controls” (Controlos). Neste caso, os resultados não podem ser aprovados e as execuções de Positive Control e Negative Control têm de ser repetidas.

NOTE

Se o Positive Control e Negative Control forem inválidos e as amostras tiverem sido incluídas na mesma execução, as amostras podem ser aprovadas mas os resultados não são válidos. Neste caso, o Controlo(s) e amostras falhados têm todos de ser repetidos.

9.3.2 Validação dos resultados da amostra

O **software ELITE InGenius** interpreta os resultados de PCR para os alvos (canais **IS481**, **BP**, **BH** e **BPP**) e o Internal Control (canal **IC**) com os parâmetros do protocolo de ensaio **BORD ELITE_NPA_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
BORD Positive Control	APROVADO
2) Negative Control	Estado
BORD 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
IS481: DNA detected (IS481:ADN detetado).	ADN de <i>B. pertussis</i> ou <i>B. holmesii</i> (IS481) foi detetado na amostra. Nota: quando for detetado o ADN IS481, também pode ser tipado o ADN de <i>B. pertussis</i> (BP) ou <i>B. holmesii</i> (BH).
IS481: ADN detetado de outras espécies relacionadas.	ADN do tipo IS481 de um organismo não intencional foi detetado na amostra.
IS481: ADN não detetado ou inferior ao LdD.	ADN de <i>B. pertussis</i> e <i>B. holmesii</i> (IS481) não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para estes agentes patogénicos ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
BP: tipagem positiva.	ADN de <i>B. pertussis</i> foi detetado na amostra. Nota: quando é detetado o BP alvo, o IS481 alvo também deve ser detetado.
BP: tipagem não exequível.	Este alvo específico para <i>B. pertussis</i> não foi detetado na amostra. Verifique também os resultados do alvo IS481.
BH: tipagem positiva.	ADN de <i>B. holmesii</i> foi detetado na amostra. Nota: quando é detetado o BH alvo, o IS481 alvo também deve ser detetado.
BH: tipagem não exequível.	Este alvo específico para <i>B. holmesii</i> não foi detetado na amostra. Verifique também os resultados do alvo IS481.
BPP: DNA detected (IS481:ADN detetado).	ADN de <i>B. paraptussis</i> foi detetado na amostra.
BPP: ADN não detetado ou inferior ao LdD.	ADN de <i>B. paraptussis</i> não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para este agente patogénico ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Invalid-Retest Sample (Inválido-Testar novamente a amostra)	Resultado do ensaio inválido devido a falha do Controlo Interno (p. ex., extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

Amostras 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 28](#)”).

Amostras reportadas como “IS481:DNA Not detected or below the LoD (IS481:ADN não detetado ou abaixo de LdD) ou BPP: DNA Not Detected or below the LoD” (BPP:ADN não detetado ou abaixo de LdD) são adequadas para análise, mas o ADN dos alvos não foi detetado. Neste caso, a amostra pode ser negativa para o ADN dos alvos ou o ADN dos alvos está presente numa concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver “[11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 18](#)”).

Amostras reportadas como “IS481: ADN detetado de outras espécies relacionadas” são adequadas para análise e o ADN do tipo IS481 de um organismo não intencional foi detetado na amostra. Neste caso, a amostra é considerada positiva para o alvo IS481, mas o ADN alvo específico de *B. holmesii* (BH) ou o ADN alvo específico de *B. pertussis* (BP) não foram detetados na amostra.

Quando é detetado ADN do gene multicópia IS481, em amostras positivas baixas de ADN do alvo específico de *B. pertussis* (BP) ou ADN do alvo específico de *B. holmesii* (BH) pode não ser detetado devido a diferenças no número de cópias dos genes do alvo específico (por ex., o promotor do gene *ptxA* e do gene *recA* estão presentes numa única cópia no BP e BH, respetivamente). No entanto, a amostra é positiva para *B. pertussis* ou para *B. holmesii*, mas não será possível realizar a identificação.

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 **Bordetella 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 **Bordetella ELITE MGB Kit** pode ser usado no **ELITE BeGenius** para realizar:

- 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).

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”.
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”.

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])
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 eluato extraído).	Insira o "Elution Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Se necessário, para cada "Position" (Posição) introduza o "Reagent name" (Nome do reagente) e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume 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
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).

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])
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 $-20 \pm 10^{\circ}\text{C}$ 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 **Bordetella ELiTe MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

NOTE

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

11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

11.1 Limite de branco (LoB)

O limite de branco (LoB) do ensaio foi determinado para o instrumento ELiTe InGenius, ao testar amostras de aspirado nasofaríngeo (NPA).

O LoB foi verificado através da análise de um painel de 60 amostras clínicas de NPA que apresentaram resultados negativos para o alvo IS481 (*B. pertussis* e *B. holmesii*) e para IS1001 (*B. parapertussis*). Devido à elevada sensibilidade analítica, o LoB foi definido através da aplicação de um corte Ct igual a 40 para o alvo IS481 (*B. pertussis* e *B. holmesii*) e para o alvo BPP (IS1001, *B. parapertussis*) para obter 95% de resultados negativos.

Os resultados finais são comunicados na tabela seguinte.

Table 12 Limite de branco

<i>B. pertussis</i> / <i>B. holmesii</i> (alvo IS481)				
Matriz	N	Positivo	Negativo	% negatividade
Aspirados nasofaríngeos negativos	60	3	57	95
<i>B. parapertussis</i> (BPP alvo)				

Table 12 Limite de branco (continued)

<i>B. pertussis</i> / <i>B. holmesii</i> (alvo IS481)				
Matriz	N	Positivo	Negativo	% negatividade
Matriz	N	Positivo	Negativo	% negatividade
Aspirados nasofaríngeos negativos	60	1	59	98

As amostras que deram resultado positivo em associação com o Bordetella ELITE MGB Kit e o instrumento ELITE InGenius apresentaram valores de Ct elevados (entre 37 e 40) e, por isso, tinham uma concentração muito baixa.

O corte Ct foi confirmado em associação com o ELITE BeGenius.

11.2 Limite de detecção (LdD)

O limite de detecção (LdD) do ensaio foi determinado para o instrumento ELITE InGenius, ao testar amostras de NPA enriquecidas com material de referência de *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii* (DMSZ, Alemanha).

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 13 Limite de detecção

Alvo	LdD (CFU / mL)	Limites de intervalo de 95% de confiança	
		Limite inferior	Limite superior
<i>B. pertussis</i> (alvo IS481)	12	7	58
<i>B. parapertussis</i> (alvo IS1001)	11	6	19
<i>B. holmesii</i> (alvo IS481)	12	5	34

O valor de LdD calculado foi verificado ao testar no ELITE BeGenius e no ELITE InGenius amostras de NPA enriquecidas com materiais de referência de *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii* à concentração indicada.

Os resultados obtidos confirmaram a concentração declarada para todos os alvos do Bordetella ELITE MGB Kit tanto no ELITE BeGenius como no ELITE InGenius.

11.3 Inclusividade: Eficiência de detecção em diferentes estirpes ou isolados

A Inclusividade do ensaio, como eficiência de detecção para diferentes estirpes ou isolados de *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii*, foi avaliada por análise *in silico*.

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

A inclusividade também foi verificada através da análise de materiais de referência *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii* (Viracell, DSMZ e ATCC).

Os resultados finais são comunicados na tabela seguinte

Table 14 Material de referência de ADN genómico

Organismo	Estirpe	Alvo	Pos./Rep.	Resultado
<i>B. pertussis</i>	estirpe F	IS481	3 / 3	IS481 detetado
		BP	3 / 3	BP tipagem positiva
<i>B. parapertussis</i>	CDC F5101	BPP	3 / 3	BPP detetado
<i>B. holmesii</i>	isolado clínico	IS481	3 / 3	IS481 detetado
		BH	3 / 3	BH tipagem positiva
<i>B. pertussis</i>	Tohama I	IS481	3 / 3	IS481 detetado
		BP	3 / 3	BP tipagem positiva
<i>B. parapertussis</i>	12822	BPP	3 / 3	BPP detetado

Table 15 Material de referência da cultura bacteriana

Organismo	Estirpe	Alvo	Pos./Rep.	Resultado
<i>B. pertussis</i>	isolado clínico	IS481	3 / 3	IS481 detetado
		BP	2 / 3	BP tipagem positiva
<i>B. parapertussis</i>	isolado clínico	BPP	3 / 3	BPP detetado
<i>B. holmesii</i>	isolado clínico	IS481	3 / 3	IS481 detetado
		BH	3 / 3	BH tipagem positiva

Todas as amostras testadas foram detetadas como positivas para o agente patogénico correto pelo Bordetella ELITE MGB Kit.

11.4 Organismos potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

A potencial reatividade cruzada de organismos não pretendidos que podem ser encontrados em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através de análise *in silico*.

A análise não demonstrou homologias significativas para os alvos com a parte principal dos organismos não pretendidos (vírus, bactérias, protozoários e fungos), pelo que não se espera reatividade cruzada. No entanto, foram observadas homologias significativas e potenciais interferências com algumas estirpes de *B. hinzii*, *B. bronchialis* e *B. bronchiseptica* para a deteção de IS481, com algumas estirpes de *B. petrii* para a deteção de recA e com *Achromobacter denitrificans* para a deteção de IS1001.

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

Foram analisadas amostras de ADN genómico em triplicado para cada marcador potencialmente interferente em associação com o instrumento ELITE InGenius no modo “PCR Only” (Apenas PCR)

Os resultados finais são comunicados na tabela seguinte.

Table 16 Organismos potencialmente interferentes: reatividade cruzada

Amostra	Positivo/réplicas					Resultado
	IS481	BP (ptx)	BH (recA)	IS1001	IC	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Candida albicans</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Escherichia coli</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Haemophilus influenzae</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Legionella pneumophila</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
CMV	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
Enterovírus	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
ADV	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
FluA	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
FluB	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
RSV	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Bordetella petrii</i> (DSM 12804)	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada*
<i>Bordetella petrii</i> (REF504)	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada**
<i>Bordetella petrii</i> (REF505)	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada*
<i>Bordetella petrii</i> (BORD1836)	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada**
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-15-132)	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada**
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-19-174)	0 / 3	0 / 3	0 / 3	0 / 3	3 / 3	Sem reatividade cruzada**

Os principais organismos potencialmente interferentes testados não apresentaram reatividade cruzada para os alvos usando o Bordetella ELITE MGB Kit.

De acordo com a análise da sequência, algumas estirpes de *Bordetella petrii* (*) foram positivas para o alvo BH. No entanto, devido à diferença de temperatura de fusão (Tm) entre o recA de *B. holmesii* e o recA de outras espécies de *Bordetella*, o protocolo do ensaio designa “tipagem não exequível”.

Além disso, outras estirpes de *B. petrii* (**) têm uma sequência do tipo IS481 e resultam positivas para o alvo IS481. No entanto, devido à diferença de Tm entre o IS481 de *B. pertussis* e *B. holmesii* e o tipo IS481 de outras espécies de *Bordetella*, o protocolo do ensaio designa “outras espécies relacionadas”.

11.5 Organismos potencialmente interferentes: Inibição

A inibição potencial dos organismos não pretendidos que podem ser encontrados em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de organismos não pretendidos (ATCC e DSMZ) reforçados com materiais de referência de *B. pertussis* (ATCC) ou *B. parapertussis* (ATCC) ou *B. holmesii* (DSMZ).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 17 Organismos potencialmente interferentes: Inibição

Amostra	Positivo/réplicas					Resultado
	IS481	BP (ptx)	BH (recA)	IS1001	IC	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Candida albicans</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Staphylococcus aureus</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Escherichia coli</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Haemophilus influenzae</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Legionella pneumophila</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
CMV	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
Enterovírus	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
ADV	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
FluA	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
FluB	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
RSV	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Bordetella petrii</i> (DSM 12804)	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Bordetella petrii</i> (REF504)	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Bordetella petrii</i> (REF505)	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Bordetella petrii</i> (BORD1836)	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-15-132)	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-19-174)	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Ausência de inibição

Todos os organismos potencialmente interferentes testados revelaram que não há inibição da amplificação do alvo utilizando o Bordetella ELite MGB Kit

11.6 Interferência entre alvos

A potencial interferência entre alvos do alvo foi avaliada por um teste de coamplificação de materiais de referência de *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii*.

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

Table 18 Interferência entre alvos

Alvo no teste (cópias baixas)	Alvo interferente em $\sim 10^5$ cópias/reação		
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>
IS481 (<i>B. pertussis</i>)	-	10 c./reação	-
BPP (<i>B. parapertussis</i>)	10 c./reação	-	100 c./reação
IS481 (<i>B. holmesii</i>)	-	10 c./reação	-

Table 19 Interferência entre alvos: tipagem

Alvo no teste (cópias baixas)	Alvo interferente em $\sim 10^5$ cópias/reação		
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>
ptxA (<i>B. pertussis</i>)	-	100 c./reação	2×10^3 c. / reação
recA (<i>B. holmesii</i>)	10^3 c. / reação	10 c./reação	-

O Bordetella ELITE MGB Kit não apresenta interferência significativa entre alvos.

11.7 Substâncias potencialmente interferentes: Inibição

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 20

Amostra	Pos./Rep.				Resultado
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>	IC	
Mucina	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Sangue Total	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Azitromicina	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Beclometasone	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Ebastine	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência
Ambroxol	3 / 3	3 / 3	3 / 3	3 / 3	Sem interferência

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

11.8 Repetibilidade

A repetibilidade do ensaio foi avaliada no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius através da análise de um painel de amostras de aspirado nasofaríngeo negativas ou enriquecidas com materiais de referência de *B. pertussis* (DSMZ), *B. parapertussis* (DSMZ) ou *B. holmesii* (DSMZ) à concentração de 3x o LdD.

Um exemplo dos resultados da repetibilidade intra-sessão (em um dia) são mostrados na tabela abaixo.

Table 21 Repetibilidade intra-sessão do ELITE InGenius

Amostra	N	IS481 / BPP alvo			%Concordância
		Média	SD	%CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	36,82	0,53	1,45	100%
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	8	36,17	0,54	1,48	100%
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,67	0,32	0,91	100%

Table 22 Repetibilidade intra-sessão do ELITE BeGenius

Amostra	N	IS481 / BPP alvo			%Concordância
		Média	SD	%CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	36,51	0,40	1,11	100%
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	8	36,20	0,36	0,98	100%
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,54	0,37	1,05	100%

Um exemplo dos resultados da repetibilidade inter-sessão (em dois dias) são mostrados na tabela abaixo.

Table 23 Repetibilidade inter-sessão do ELITE InGenius (dia 1 + dia 2)

Amostra	N	IS481 / BPP alvo			%Concordância
		Média	SD	%CV	
Negativo	16	-	-	-	100%
<i>B. pertussis</i> (IS481)	16	36,69	0,52	1,42	100%
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	16	36,25	0,50	1,39	100%
<i>B. holmesii</i> (IS481)	16	35,47	0,33	0,92	100%

Table 24 Repetibilidade inter-sessão do ELITE BeGenius (dia 1 + dia 2)

Amostra	N	IS481 / BPP alvo			%Concordância
		Média	SD	%CV	
Negativo	16	-	-	-	100%
<i>B. pertussis</i> (IS481)	16	36,59	0,38	1,04	100%
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	16	36,22	0,44	1,21	100%
<i>B. holmesii</i> (IS481)	16	35,38	0,33	0,92	100%

No teste de repetibilidade, o Bordetella 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%.

11.9 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do ensaio foi avaliada no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius através da análise de um painel de amostras de aspirado nasofaríngeo negativas ou enriquecidas com material de referência de *B. pertussis* (DSMZ), *B. parapertussis* (DSMZ) e *B. holmesii* (DSMZ) à concentração de 3x o LdD.

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

Table 25 Reprodutibilidade inter-lote do ELITE InGenius

Amostra		IS481 / BPP alvo			%Concordância
	N	Média	SD	%CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	36,87	0,32	0,88	100%
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	8	35,97	0,53	1,47	100%
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,46	0,61	1,72	100%

Table 26 Reprodutibilidade inter-lote do ELITE BeGenius

Amostra		IS481 / BPP alvo			%Concordância
	N	Média	SD	%CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	37,20	0,49	1,31	100%
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	8	36,19	0,53	1,45	100%
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,59	0,39	1,08	100%

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

Table 27 Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITE InGenius

Amostra		IS481 / BPP alvo			%Concordância
	N	Média	SD	%CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	36,73	0,28	0,76	100%
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	8	35,80	0,53	1,47	100%
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,15	0,39	1,12	100%

Table 28 Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITE BeGenius

Amostra		IS481 / BPP alvo			%Concordância
	N	Média	SD	%CV	
Negativo	8	-	-	-	100%
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	37,12	0,45	1,22	100%

Table 28 Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITE BeGenius (continued)

Amostra	N	IS481 / BPP alvo			%Concordância
		Média	SD	%CV	
B. parapertussis (BPP)	8	36,10	0,62	1,71	100%
B. holmesii (IS481)	8	35,40	0,45	1,26	100%

No teste de reprodutibilidade, o produto Bordetella 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%.

11.10 Especificidade de diagnóstico (concordância de percentagem negativa): Confirmação de amostras negativas

A especificidade de diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas negativas, foi avaliada em associação com o ELITE InGenius através da análise de amostras clínicas de Aspirado nasofaríngeo certificadas negativas para *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii* pelo método cultural e um ensaio comercial CE IVD num laboratório externo.

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

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 29 Especificidade do diagnóstico

Aspirado nasofaríngeo negativo	N	Positivo	Negativo	% de especificidade do diagnóstico
<i>B. pertussis</i> / <i>B. holmesii</i> (IS481)	59	0	59	100%
<i>B. parapertussis</i>	83	1	82	98,8%

O valor de corte IC Ct está definido para 30.

11.11 Sensibilidade de diagnóstico (concordância de percentagem positiva): 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 de aspirado nasofaríngeo certificadas positivas para cada alvo ou reforçadas com material de referência (DSMZ e BCCM).

As amostras positivas e as amostras negativas usadas para o reforço foram certificadas pelo método cultural e/ou um ensaio comercial CE IVD. Amostras artificiais para *B. parapertussis* e *B. holmesii* foram reforçadas a várias concentrações, com vista à obtenção de um intervalo de Ct amplo.

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

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 30 Sensibilidade de diagnóstico

Aspirado nasofaríngeo positivo/ /reforçado	N	Positivo	Negativo	% de especificidade do diagnóstico
Positivo para <i>B. pertussis</i>	58	57	1	98,3%
Reforçado para <i>B. paraptussis</i>	58	58	0	100%
Reforçado para <i>B. holmesii</i>	54	54	0	100%
Positivo para <i>B. holmesii</i>	1	1	0	

NOTE

Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e o instrumento estão registados no Ficheiro técnico do produto "Bordetella ELITE MGB® Kit", FTP 140ING

12 REFERÊNCIAS

U. Reischl et al. (2001) J Clin Microbiol. 39: 1963–1966.

N. K. Fry et al. (2009) J Med Microbiol. 58: 1023-9.

A. Van der Zee (1993) J Bacteriol. 175: 141-7.

J. L. Guthrie et al. (2010) J Clin Microbiol. 48: 1435-7

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

<https://www.mayocliniclabs.com/> - BPRPV

<https://www.questdiagnostics.com/healthcare-professionals/test-directory>

Manual laboratorial para o diagnóstico de Tosse Convulsa causada por Bordetella pertussis/

Bordetella paraptussis Atualização 2014 – ISBN WHO_IVB_14.03_eng

13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Utilize este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: aspirado nasofaríngeo.

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

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

Devido à sua elevada sensibilidade analítica, o método de PCR em tempo real usado neste produto é sensível a contaminação 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 infecciosas e de preparações químicas classificadas como perigosas, para evitar acidentes com consequências potencialmente graves para o utilizador e outras pessoas.

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

Este produto requer o uso de 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 ADN do alvo não foi detetado no ADN extraído da amostra; no entanto, não pode negligenciar-se o facto de o ADN do alvo ter um título mais baixo que o limite de deteção do produto (ver [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 18](#)). Neste caso, o resultado podia ser um falso negativo.

No caso de coinfeções, a sensibilidade de um alvo pode ser afetada pela amplificação de um segundo alvo (ver [11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 18](#)).

Em alguns casos, *B. bronchiseptica*, *B. hinzii* e *B. bronchialis* podem albergar as sequências repetidas de IS481, pelo que podem gerar resultados positivos para este alvo.

Em alguns casos, *B. bronchiseptica* e *Achromobacter denitrificans* podem albergar as sequências repetidas de IS1001, pelo que podem gerar resultados positivos para o alvo BPP.

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 31

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.

Table 31 (continued)

Reação de Positive Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
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 32

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 33

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

Table 34

Erro no cálculo de Ct	
Causas possíveis	Soluções
Concentração demasiado alta do alvo na amostra ou amostra com sinal de fluorescência anómalo.	Se for observada uma amplificação significativa no gráfico de PCR, selecione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado como sendo positivo. Se não for observada uma amplificação significativa no gráfico de PCR, selecione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado como sendo negativo, ou deixe-o como inválido. Se for necessário um valor de Ct: - 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 35

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

15 SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Limite máximo da temperatura.



Código de lote.



Prazo de validade (último dia do mês).

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*.

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



Identificação única do dispositivo



Contém suficiente para "N" testes.



Consultar as instruções de utilização.



Conteúdo.



Manter afastado da luz solar.



Fabricante.

16 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES

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

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 7319022, 7348146, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8163910, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, e os 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 licenciadores concedem quaisquer outras licenças, expressas ou implícitas, para quaisquer outros fins.

Appendix A Bordetella 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 **Bordetella ELITE MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio de PCR em tempo real de ácidos nucleicos multiplexado e qualitativo para a deteção e identificação do ADN genómico de ***Bordetella pertussis* (BP)**, ***Bordetella parapertussis* (BPP)** e ***Bordetella holmesii* (BH)**, extraído de amostras clínicas.

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

O produto está previsto para utilização como auxiliar no diagnóstico de infeções respiratórias *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii*, em pacientes com suspeita de infeção por *Bordetella*.

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

Sequência amplificada

Objetivo para aplicação qualitativa	Gene	Fluoróforo
B. pertussis e B. holmesii	IS481	FAM (CH 1)
B. pertussis	promotor do gene ptxA	AP639 (CH 5)
B. holmesii	recA	AP690 (CH 6)
B. parapertussis	IS1001	AP593 (CH 4)
Internal Control	IC2	AP525 (CH 2)

Matriz validada

- Aspirado nasofaríngeo

Conteúdo do Kit e produtos relacionados

Bordetella ELITE MGB Kit (RTS140ING)	Bordetella - ELITE Positive Control (CTR140ING)
 X 8	 X 3
BORD PCR Mix 8 tubos de 280 µL 12 reações por tubo 96 reações por kit 7 ciclos de congelação-descongelação por tubo	BORD Positive Control 3 tubos de 160 µL 4 reações por tubo 12 reações por kit 4 ciclos de congelação-descongelação

Bordetella ELITE MGB Kit (RTS140ING)		Bordetella - ELITE Positive Control (CTR140ING)	
Prazo de conservação máximo:	24 meses	Prazo de conservação máximo	24 meses
Temperatura de armazenamento	≤ -20°C	Temperatura de armazenamento	≤ -20°C

Outros produtos necessários não fornecidos no kit

- Instrumento ELITE InGenius: INT030 - Instrumento ELITE BeGenius: INT040 - ELITE InGenius SP 200: INT032SP200	- CPE - Internal Control: CTRCPE - Consumíveis do ELITE InGenius e ELITE BeGenius (ver instruções de utilização do ELITE InGenius e do ELITE BeGenius)
--	---

Protocolo ELITE InGenius e ELITE BeGenius

- Volume da amostra - Volume CPE - Volume de eluição total	200 µL 10 µL 100 µL	- Volume de entrada de PCR eluato - Volume de PCR Mix - Frequência dos controles	20 µL 20 µL 15 dias
--	---------------------------	--	---------------------------

Desempenhos ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Alvo	Limite de detecção	Sensibilidade	Especificidade
B. pertussis	12 CFU/mL	98,3% 57/58*	100% 59/59*
B. holmesii	12 CFU/mL	100% 55/55*	100% 59/59*
B. parapertussis	11 CFU/mL	100% 58/58*	98,8% 82/83*

*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.

Tipo de amostra	Condições de transporte/armazenamento			
	+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Aspirado nasofaríngeo	≤ 2 dias	≤ 7 dias	≤ 1 mês	> 1 mês

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 (Extrair+PCR) (p. ex., amostras)

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil	2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluição: "100 µL"	3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: BORD ELiTe_NPA_200_100	5. Selecione o método "Extract + PCR" (Extrair+PCR) e a posição da amostra: Extraction Tube (Tubo de extração)	6. Carregue a PCR Mix e o Internal Control 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: BORD ELiTe_NPA_200_100 ou BORD ELiTe_PC ou BORD ELiTe_NC	5. Selecione o método "PCR Only" (Apenas PCR) e a posição da amostra "Elution Tube" (Tubo de eluição)	6. Carregue a PCR Mix no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregar: 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 (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 (Extrair+PCR) (p. ex., amostras)

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução "Extract + PCR" (Extrair + PCR)	2. Insira o rack de amostras com as amostras com código de barras na Cooler Unit. A leitura do código de barras já se encontra ativada	3. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluato: "100 µL"
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: BORD ELITE_Be_NPA_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 Internal Control 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. Para os controlos: por cada "Position", insira 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). Para os eluatos: para cada "Position" (Posição), insira a "Sample ID" (Identificação da amostra), a "Sample matrix" (Matriz da amostra), o "Extraction kit" (Kit de extração) e o "Extracted eluate vol." (Volume de eluato extraído).
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: BORD ELITE_Be_NPA_200_100 ou BORD ELITE_Be_PC ou BORD ELITE_Be_NC	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