Instructions for use

Macrolide-R/MG ELITe MGB® Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN

ELITechGroup
A BRUKER COMPANY

REF RTS401ING-48

UDI 08033891486686

CE 0123

IVD

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Rev.	Aviso de alteração	Data (dd/mm/aa)
06–R	Atualização dos parágrafos "Validação dos resultados da amostra" e "Limitações do procedimento"	23/09/26
05–R	Conformidade com o Regulamento (UE) 2017/746 relativo aos requisitos de dispositivos médicos de diagnóstico in vitro (IVDR). Expansão da utilização do produto em associação com os instrumentos ELITe InGenius® e ELITe BeGenius®, com matrizes de esfregaços cervico-vaginais. Substituição da abreviatura MG pela MYG Alteração do nome do componente removendo -48 Substituição do tubo de 2mL 953-217 e da tampa branca 953-223 pelo tubo de 2mL 953-065 relativo aos tubos de componentes de PCR Mix. Atualização do parágrafo “Referências”. Atualização da embalagem do tubo de PCR Mix (parágrafo “Materiais fornecidos no produto”) Atualização do parágrafo “Materiais necessários mas não fornecidos com o produto” Atualização do parágrafo “Outros produtos necessários” Atualização do parágrafo “Notificação para os utilizadores” Atualização do parágrafo “Nota para o adquirente: licença limitada” Atualização do parágrafo “Símbolos” com o símbolo “Consulte as instruções de utilização”	27/11/25
04	Adição da informação UDI Descrição do produto: correção de gralhas relacionadas com o alinhamento entre alvos e corantes	23/04/24
00–03	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 ELITechGroup para solicitar a revisão anterior das instruções de utilização.

REF. PRODUTO	Número do lote	Data de expiração
RTS401ING	U0925-055	31/07/2027

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 4
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 do ELITe InGenius 9
10 PROCEDIMENTO do ELITe BeGenius 14
11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO 19
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 **Macrolide-R/MG 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 dos ácidos nucleicos qualitativo para a deteção de ADN de ***Mycoplasma genitalium*** **(MYG)** extraído de amostras clínicas e para identificação das principais mutações associadas à resistência aos Macrolídeos.

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

O produto destina-se a ser utilizado como um auxílio no diagnóstico de infeções do trato urogenital em pacientes com suspeita de infeção por *Mycoplasma genitalium*.

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

2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio é uma PCR qualitativa em tempo real que deteta ADN de Mycoplasma genitalium e as principais mutações associadas à resistência a macrolídeos, isolado de amostras e amplificado utilizando o reagente de ensaio R/MG PCR Mix, que contém primers e sondas de 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 **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** fornece o reagente do ensaio **R/MG PCR Mix,** uma mistura de PCR otimizada e estabilizada que contém os primers e sondas específicos de:

- Gene 23S rRNA de M. genitalium, detetado no Canal **MYG**; a sonda é estabilizada por MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher® e marcada pelo corante AquaPhluor® 525 (AP525),

- 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**R/MG PCR Mix** também contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido e ADN Polimerase de início a quente.

O **Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit** contém reagentes suficientes para **48 testes** no **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius (12 testes em cada tubo)**, com 20 µL usados por reação.

O **Macrolide-R/MG 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
R/MG PCR Mix ref. RTS401ING-48	Mistura de reagentes para PCR em tempo real tubo com tampa NATURAL	**4 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). **ELITe InGenius Software** versão 1.4.0 (ou superior). **R_MG ELITe_PC**, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control. **R_MG ELITe_NC**, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control. **R_MG ELITE_U_200_100,** Protocolo de Ensaio (Assay Protocol) com parâmetros para a análise de amostras da primeira urina da manhã. **R_MG ELITe_CS_200_100,** protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostras em esfregaços cervico-vaginais	**Macrolide-R/MG - ELITe Positive Control** (EG SpA, ref. CTR401ING). **CPE - Internal Control** (EG SpA, ref. CTRCPE). **ELITe InGenius SP200** (EG SpA, ref. INT032SP200). Consumíveis **ELITe InGenius** e **ELITe BeGenius** (ver instruções de utilização do ELITe InGenius e do ELITe BeGenius) **eSWAB ®** (COPAN Italia S.p.A., ref. 480CE), ou um dispositivo equivalente, para amostras de esfregaço cervico-vaginal
ELITe BeGenius (EG SpA ref. INT040). **ELITe BeGenius Software** versão 2.3.0 (ou superior). **R_MG ELITe _Be_PC**, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control. **R_MG ELITe _Be_NC**, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control. **R_MG ELITe_Be_U_200_100,** protocolo de ensaio com parâmetros para a análise de amostras da primeira urina da manhã. **R_MG ELITe_Be_CS_200_100,** protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostras em esfregaços cervico-vaginais	

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 infeciosas. 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 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.

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

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

Os produtos 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)
R/MG 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 e protocolos de ensaio

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

Table 4

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)*	**+2° / +8°C**	**-20 ±10 °C**	**-70 ±15 °C**
Primeira urina	colhidas sem conservantes	≤ 1 dia	≤ 2 dias	≤ 1 mês	≤ 1 mês
Esfregaços cervico--vaginais	eSwab® (COPAN) ou um reagente equivalente (opcional)	≤ 2 dias	≤ 2 dias	≤ 1 mês	≤ 1 mês

A primeira urina da manhã pode ser usada "tal como está" ou a uma concentração de 10 vezes por centrifugação a cerca de 1.000 RCF durante 10 minutos.

Mesmo sendo possíveis períodos de armazenamento mais longos a -70 ° C, conforme o extensivamente indicado pela literatura científica, a sua aplicação deve ser avaliada internamente pelos utilizadores finais deste produto. 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 Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit

Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Primeira urina colhida sem conservan-tes	**ELITe InGenius**	**R_MG ELITe _U_200_ 100**	Positiva / Negativa	Volume inicial de extração: 200 µL Volume de eluição da extração: 100 µL Internal Control: 10 µL Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1 Volume da PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITe BeGenius	**R_MG ELITe _Be_U_ 200_100**		
Esfregaços cervico--vaginais	**ELITe InGenius**	**R_MG ELITe_CS_200_ 100**		
	ELITe BeGenius	**R_MG ELITe_Be_CS_ 200_100**		

NOTE

Verifique se o tubo primário e o volume da amostra são compatíveis com o ELITe InGenius ou o ELITe BeGenius, seguindo as instruções de utilização do kit de extração **ELITeInGeniusSP200** (EG SpA, ref. INT032SP200).

O volume da amostra num tubo primário varia consoante o tipo de tubo carregado. Consulte as instruções de utilização do kit de extração para obter mais informações sobre como preparar e realizar o procedimento de extração.

Se necessário, 200 µL de amostra devem ser transferidos para o tubo de extração (para o ELITE InGenius) ou 200 µL de amostra devem ser transferidos para um 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 ºC ou abaixo durante não mais de um mês.

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

8.2 Controlos da PCR

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

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

NOTE

O **ELITe InGenius** e o **ELITe BeGenius** permitem a geração e o armazenamento da 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 da PCR devem ser novamente testados se ocorrer algum dos seguintes eventos:

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

8.3 Controlos da qualidade

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

9 PROCEDIMENTO do ELITe InGenius

O procedimento para uso do**Macrolide-R/MG 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 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

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 **Macrolide-R/MG 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 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.

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])
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**Macrolide-R/MG 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.

9.4 Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control da amplificação

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

Os resultados do positive control e negative control, específicos para o lote 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.

9.5 Validação dos resultados da amostra

O **software ELITe InGenius** interpreta os resultados de PCR para o alvo (canal **MYG**) e do Internal Control (canal **IC**) com os parâmetros do protocolo de ensaio **R_MG ELITe_U_200_100** e **R_MG ELITe_CS_200_100**.

Os resultados são mostrados no ecrã “Result Display”.

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

Table 8

1) Positive Control	**Estado**
R/MG Positive Control	APROVADO
2) Negative Control	**Estado**
R/MG Negative Control	APROVADO

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

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

Table 9

Resultado da execução da amostra	Interpretação
MYG:DNA Detected Macrolide Resistance Positive (MYG:DNA Detetado Resistência aos Macrólidos Positiva)	**Foi detetado ADN de *Mycoplasma genitalium*** na amostra. Foi detetada uma mutação na região do gene testada. A amostra podia ser **resistente a Macrólidos**.
MYG:DNA Detected Macrolide Resistance Negative (MYG:DNA Detetado Resistência aos Macrólidos Negativa)	**Foi detetado ADN de *Mycoplasma genitalium*** na amostra. Não foi detetada qualquer mutação na região do gene testada. A amostra podia ser **sensível a Macrólidos**.
MYG:DNA Detected - Typing not feasible-Retest Sample (MYG:DNA Detetado - Digitacão nviável-Reteste da amostra)	**Foi detetado ADN de *Mycoplasma genitalium*** na amostra mas é insuficiente para prosseguir com a análise da resistência a Macrólidos. O teste deve ser repetido.
MYG:DNA Detected Typing not determined (MYG:DNA Detetado Digitacão não determinada)	**Foi detetado ADN de *Mycoplasma genitalium*** na amostra mas a análise da resistência à macrolídeos não é viável.
MYG:DNA Detected Macrolide Resistance Positive Macrolide Resistance Negative (MYG:DNA Detetado Resistência aos Macrólidos Positiva Resistência aos Macrólidos Negativa)	**Foi detetado ADN de *Mycoplasma genitalium*** na amostra. Ambas as sequências-alvo associadas à resistência e à sensibilidade aos macrólidos foram detetadas na amostra. A amostra podia ser **resistente a Macrólidos.** Possível presença de coinfeções entre a estirpe de *Mycoplasma genitalium* com e sem mutações associadas à resistência aos macrólidos.
MYG:DNA Not detected or below the LoD (MYG:DNA Não detetado ou abaixo de LoD)	**Não foi detetado ADN de *Mycoplasma genitalium*** 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 não válido** devido a falha do Controlo Interno (extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

As amostras indicadas como MYG: DNA detected - Typing not feasible-Retest Sample" (MYG: DNA Detetado - Digitacão nviável-Reteste da amostra) não são adequadas para a análise da resistência a macrolídeos. Neste caso, o ADN de *Mycoplasma genitalium* foi detetado mas o ADN não é suficiente para obter resultados corretos da resistência a Macrólidos de uma forma passível de ser reproduzida. Isto acontece devido a uma baixa concentração de *Mycoplasma genitalium* na amostra ou a problemas no passo de amplificação ou extração (degradação do ADN, perda de ADN durante a extração ou transferência de inibidores na eluição). O teste tem de ser repetido.

NOTE

Nas amostras indicadas como “MYG:DNA Detected - Typing not feasible-Retest Sample” (MYG:DNA Detetado - Digitacão nviável - Reteste da amostra) o resultado não pode ser aprovado, mas o valor Tm pode ser verificado pelo operador. Se o valor de Tm for inferior a 63,0 °C (limite inferior de Tm do tipo selvagem) a amostra é “MYG:DNA Detected. Macrolide Resistance Positive” (MYG:DNA Detetado. Resistência a Macrólidos positiva).

As amostras reportadas como “MYG:DNA Detected. Typing not determined” (MYG:DNA Detetado. Digitacão não determinada) sem qualquer indicação do estado de resistência a macrolídeos não é adequada para genotipificação. Neste caso, o ADN do alvo foi detetado na amostra, mas não foi possível calcular um Tm ou o valor de Tm calculado estava fora dos intervalos de Tm para tipagem. Neste último caso pode dever-se a mutações diferentes das pretendidas, amostras não recolhidas corretamente ou a problemas no passo de extração (transferência do inibidor para o eluato).

Amostras reportadas como: "MYG:DNA Not detected or below the LoD" (MYG:DNA Não detetado ou abaixo de LoD) são adequadas para análise mas não foi possível detetar ADN de *Mycoplasma genitalium*. Neste caso não pode excluir-se que o ADN de MYG esteja presente a uma concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver “11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 19”).

Amostras indicadas como “Invalid - Retest Sample” (Inválido - Testar novamente amostra): neste caso, o ADN do Internal Control não foi detetado eficientemente devido a problemas nos passos de colheita, extração ou PCR da amostra (por ex. degradação ou perda do ADN durante a extração ou inibidores no eluato), que pode causar resultados incorretos. Se subsistir volume da eluição suficiente, o eluato pode ser novamente testado 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”).

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).

9.6 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**Macrolide-R/MG 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**Macrolide-R/MG 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**".
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.

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])
	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).
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 **Macrolide-R/MG 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 deteção (LdD)

O limite de deteção (LdD) do ensaio foi determinado para o instrumento **ELITe InGenius** testando as amostras da primeira urina da manhã sem conservantes reforçadas com material de referência de *Mycoplasma genitalium* (Qnostics, Reino Unido, código MG1803023B).

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 12 Limite de deteção (organismos/mL) para amostras de primeira urina e sistema ELITe InGenius

LdD (organismos/mL)	Limites de intervalo de 95% de confiança	
	Limite inferior	Limite superior
247	155	634

O valor do LdD calculado foi verificado testando no **ELITe InGenius** e no **ELITe BeGenius** amostras da primeira urina da manhã e urina concentrada e esfregaços cervico-vaginais reforçadas com material de referência de Mycoplasma genitalium (DSMZ, DSM 19775) à concentração declarada.

Os resultados obtidos confirmaram a concentração declarada para o alvo do Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit com as três matrizes tanto no ELITe BeGenius como no ELITe InGenius.

11.2 Deteção da resistência a Macrólidos

A deteção da resistência aos macrolídeos foi avaliada para o ensaio testando amostras certificadas pelo ELITe InGenius (fornecidas por um laboratório externo) e ADN de plasmídeos portadores da região amplificada do gene 23S rRNA com as principais mutações relacionadas com a resistência aos antibióticos listadas na tabela abaixo:

Table 13

Mutação
A2058G
A2058C
A2058T
A2059G
A2059C
A2062G
A2062T

NOTE

O ensaio pode detetar outras mutações na mesma região do gene 23S rARN, tais como A2062C.No entanto, esta mutação não parece estar associada com a resistência aos macrolídeos.

Os resultados do teste são apresentados na secção seguinte sobre Eficiência de deteção.Todos os isolados e ADNs plasmídeos foram detetados como Mycoplasma genitalium positivo e com tipagem correta como possivelmente resistente a Macrólidos pelo produto Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit.

11.3 Inclusividade: Eficiência da deteção

A Inclusividade do ensaio, como eficiência de deteção para *Mycoplasma genitalium* incluindo as variantes resistentes à azitromicina foi avaliada por análise *in silico*.

A análise mostrou a conservação das sequências e a ausência de mutações significativas.Assim, espera-se uma deteção eficiente para as 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 incluindo mutações para a resistência da azitromicina.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 14

Amostra	Pos./Rep.	Mut. /Rep.
M. genitalium wt	3/3	0/3
pMG A2058G	3/3	3/3
pMG A2058C	3/3	3/3
pMG A2058T	3/3	3/3
pMG A2059G	3/3	3/3
pMG A2059C	3/3	3/3
pMG A2062G	12/12	12/12
pMG A2062T	12/12	12/12
MG 410 (A2058G)	1/1	1/1
MG 426 (A2058G)	1/1	1/1
MG 539 (A2059G)	1/1	1/1
MG 540 (A2058G)	1/1	1/1

11.4 Organismos potencialmente interferentes

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 para *Mycoplasma genitalium* não revelou homologias significativas com outros organismos não intencionais (vírus e bactérias), pelo que não se espera qualquer potencial interferência.

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 15 Potencial reatividade cruzada

Organismo	Estirpe	Resultado
Chlamydia trachomatis	LGV II	Sem reatividade cruzada
Neisseria gonorrhoeae	DSM 9188	Sem reatividade cruzada
Trichomonas vaginalis	Isolado clínico	Sem reatividade cruzada

Table 15 Potencial reatividade cruzada (continued)

Organismo	Estirpe	Resultado
Mycoplasma hominis	PG21	Sem reatividade cruzada
Ureaplasma urealyticum	NCTC10177	Sem reatividade cruzada
Escherichia coli	CFT073	Sem reatividade cruzada
Ureaplasma parvum	NCTC 11736	Sem reatividade cruzada
Treponema pallidum	Nichols	Sem reatividade cruzada
Gardnerella vaginalis	594	Sem reatividade cruzada
Mobiluncus mulieris	BV 64-5	Sem reatividade cruzada
Bacteroides fragilis	NCTC 9343	Sem reatividade cruzada
Peptostreptococcus anaerobius	MSHD	Sem reatividade cruzada
Candida albicans	3147	Sem reatividade cruzada
Lactobacillus acidophilus	Pak	Sem reatividade cruzada
HSV1	McIntyre	Sem reatividade cruzada
HSV2	G	Sem reatividade cruzada

Todos os organismos potencialmente interferentes testados revelaram que não há reatividade cruzada para a amplificação do alvo utilizando o Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit.

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 (Vircell Microbiologist), reforçado com ADN genómico de *Mycoplasma genitalium* a baixa concentração.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 16 Potencial interferência

Organismo	Estirpe	Resultado
Chlamydia trachomatis	LGV II	Sem interferência
Neisseria gonorrhoeae	DSM 9188	Sem interferência
Trichomonas vaginalis	Isolado clínico	Sem interferência
Mycoplasma hominis	PG21	Sem interferência
Ureaplasma urealyticum	NCTC10177	Sem interferência
Escherichia coli	CFT073	Sem interferência
Ureaplasma parvum	NCTC 11736	Sem interferência
Treponema pallidum	Nichols	Sem interferência
Gardnerella vaginalis	594	Sem interferência
Mobiluncus mulieris	BV 64-5	Sem interferência
Bacteroides fragilis	NCTC 9343	Sem interferência
Peptostreptococcus anaerobius	MSHD	Sem interferência

Table 16 Potencial interferência (continued)

Organismo	Estirpe	Resultado
Candida albicans	3147	Sem interferência
Lactobacillus acidophilus	Pak	Sem interferência
HSV1	McIntyre	Sem interferência
HSV2	G	Sem interferência

Todos os organismos potencialmente interferentes testados não apresentaram inibição para a amplificação do alvo usando o Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit.

11.5 Substâncias interferentes

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte

Table 17 %CV Ct (Ref. + teste)

Substância	Pos % Concordância	Resultado
Sangue total	100%	Sem interferência
Esperma	100%	Sem interferência
Mucina	100%	Sem interferência
Azitromicina	100%	Sem interferência
Urina alcalina	100%	Sem interferência
Urina ácida	100%	Sem interferência
Antiviral	100%	Sem interferência
Antibiótico	100%	Sem interferência
Antifungico	100%	Sem interferência
Lubrificante	100%	Sem interferência
Espermicida	100%	Sem interferência

O teste mostrou que todas as substâncias testadas não reagem de forma cruzada com os alvos usando o Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit.

11.6 Repetibilidade

A repetibilidade do ensaio foi avaliada no ELITe BeGenius e no ELITE InGenius por análise de um painel de amostras da primeira urina da manhã negativas ou reforçadas com material de referência certificado de *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775).

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

Table 18 Repetibilidade intra-sessão no ELITe BeGenius

Amostra	Pos./Neg.	Mycoplasma genitalium			%Concordância
		Ct médio	SD	% CV	
Negativo	0 / 8	N/A	N/A	N/A	100%
3X LdD	8 / 8	34,59	0,69	1,98	100%
10X LdD	8 / 8	32,51	0,41	1,25	100%

Table 19 Repetibilidade intra-sessão no ELITe InGenius

Amostra	Pos./Neg.	Mycoplasma genitalium			%Concordância
		Ct médio	SD	% CV	
Negativo	0 / 8	N/A	N/A	N/A	100%
3X LdD	8 / 8	35,97	0,64	1,77	100%
10X LdD	8 / 8	32,66	0,30	0,93	100%

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

Table 20 Repetibilidade inter-sessão no ELITe BeGenius

Amostra	Pos./Neg.	Mycoplasma genitalium			%Concordância
		Ct médio	SD	% CV	
Negativo	0 / 16	N/A	N/A	N/A	100%
3X LdD	16 / 16	35,18	0,98	2,78	100%
10X LdD	16 / 16	32,79	0,45	1,37	100%

Table 21 Repetibilidade inter-sessão no ELITe InGenius

Amostra	Pos./Neg.	Mycoplasma genitalium			%Concordância
		Ct médio	SD	% CV	
Negativo	0 / 16	N/A	N/A	N/A	100%
3X LdD	16 / 16	36,13	0,80	2,21	100%
10X LdD	16/16	32,91	0,57	1,73	100%

No teste de repetibilidade, o Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade dos valores de Ct do alvo como coeficiente de variação em percentagem %CV inferior a 5%.

11.7 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do ensaio foi avaliada no ELITe BeGenius e no ELITE InGenius por análise de um painel de amostras da primeira urina da manhã negativas ou reforçadas com material de referência certificado de *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775).

Os resultados da reprodutibilidade interlote (em dois lotes) são apresentados na tabela abaixo.

Table 22 Reprodutibilidade interlote no ELITe BeGenius

Amostra	Pos./Rep.	Mycoplasma genitalium			%Concordância
		Ct médio	SD	%CV	
Negativo	0 / 8	-	-	-	100%
3 X LdD	8 / 8	35,75	0,27	0,75	100%
10 X LdD	8 / 8	33,16	0,74	2,23	100%

Table 23 Reprodutibilidade interlote no ELITe InGenius

Amostra	Pos./Rep.	Mycoplasma genitalium			%Concordância
		Ct médio	SD	%CV	
Negativo	0 / 8	-	-	-	100%
3 X LdD	8 / 8	35,79	0,83	2,31	100%
10 X LdD	8 / 8	33,65	0,44	1,29	100%

Os resultados da reprodutibilidade inter-instrumento (em dois dias, dois lotes e dois instrumentos) são mostrados na tabela abaixo.

Table 24 Reprodutibilidade inter-instrumento no ELITe BeGenius

Amostra	Pos./Rep.	Mycoplasma genitalium			%Concordância
		Ct médio	SD	%CV	
Negativo	0 / 16	-	-	-	100%
3 X LdD	16 / 16	35,59	0,79	2,22	100%
10 X LdD	16 / 16	33,19	0,46	1,39	100%

Table 25 Reprodutibilidade inter-instrumento no ELITe InGenius

Amostra	Pos./Rep.	Mycoplasma genitalium			%Concordância
		Ct médio	SD	%CV	
Negativo	0 / 16	-	-	-	100%
3 X LdD	16 / 16	35,67	0,05	1,94	100%
10 X LdD	16/16	33,25	0,23	0,69	100%

No teste de reprodutibilidade, o Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade dos valores de Ct do alvo como coeficiente de variação %CV inferior a 5%.

11.8 Sensibilidade de diagnóstico: confirmação de amostras positivas

A sensibilidade de diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas positivas para *Mycoplasma Genitalium* (MYG), foi avaliada em associação com o **ELITe InGenius** através da análise de amostras clínicas da primeira urina da manhã colhida sem conservantes, primeira urina da manhã concentrada e esfregaços cervico--vaginais, certificadas como positivas ou reforçadas com materiais de referência.

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

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 26

Amostras	N	positivo	negativo	% de sensibilidade de diagnóstico
Primeira urina da manhã positiva para MYG	66	65	1	98,5%
Primeira urina da manhã concentrada positiva para MYG	53	53	0	100%
Esfregaço cervico-vaginal positivo para MYG	29	29	0	100%
Esfregaço cervico-vaginal reforçado para MYG	60	60	0	

Relativamente à identificação da resistência aos macrólidos, os resultados obtidos com o ensaio por análise Tm ("Resistência aos macrólidos negativa" (WT) ou "Resistência aos macrólidos positiva" (MUT)) foram comparados com os dados obtidos com os métodos de referência. Os resultados obtidos para as diferentes matrizes são apresentados em baixo.

Table 27

Amostras	Métodos de referência	WT	MUT	WT & MUT	Tipagem **Concordância**
Primeira **urina**	WT	13	1	0	**98,4%**
	MUT	0	47	0	
	WT & MUT	0	0	1	
Concentrada Primeira **urina**	WT	9	1	0	**98,1%**
	MUT	0	42	0	
	WT & MUT	0	0	1	
Esfregaço cervico- **-vaginal**	WT	49	0	0	**100%**
	MUT	0	37	0	
	WT & MUT	0	0	0	

11.9 Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

A especificidade de diagnóstico do ensaio, como confirmação de amostras clínicas negativas para *Mycoplasma Genitalium* (MYG), foi avaliada em associação com o **ELITe InGenius** através da análise de amostras clínicas da primeira urina da manhã colhida sem conservantes, primeira urina da manhã concentrada e esfregaços cervico--vaginais, certificadas como negativas.

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 obtida em associação com o **ELITe InGenius** é também aplicável ao **ELITe BeGenius.**

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 28

Amostras	N	positivo	negativo	% de especificidade do diagnóstico
Primeira urina da manhã negativa para MYG	55	0	55	100%
Primeira urina da manhã concentrada negativa para MYG	54	0	54	100%
Esfregaço cervico-vaginal negativo para MYG	104	0	104	100%

O valor-limite da Ct de CI está definido para 32 para todas as matrizes.

NOTE

Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e o instrumento estão registados no Ficheiro técnico do produto "Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit Kit", FTP401ING.

12 REFERÊNCIAS

Twin J. et al. (2012) PLoS ONE Vol. 7, Edição 4

Nijhuis R.H.T. et al J. Antimicrob. Chemother.(2015), 70: 2515-2518

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

G. L. Murray et al. (2019) J. Appl. Microbiol. 127(4):1219-1223

A. Guschin et al. (2015) BMC Infect Dis. 15:40.

R. Palich et al. (2021) Sex. Transm. Dis. 48(11):e163-e164.

13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Utilize este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: primeira urina da manhã e esfregaço cervico--vaginal.

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 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 equipamento de proteção individual e instrumentos específicos para preparação da sessão de trabalho, para evitar falsos resultados positivos.

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

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

Um resultado negativo obtido com este produto indica que o ADN alvo não é detetado no ADN extraído da amostra; no entanto, não se pode excluir que o ADN alvo tenha um título inferior ao limite de deteção do produto (ver11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO page 19).Neste caso, o resultado poderia 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 (ver 14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS page 27).

Os resultados obtidos com este produto sobre a possível resistência aos macrolídeos de *Mycoplasma genitalium* estão limitados à deteção das principais mutações como indicado na Secção “Características de desempenho”. Outras mutações não detetadas por este produto podem estar associadas à resistência a Macrólidos. Por outro lado, podem ser detetadas mutações silenciosas por este produto, mas não estão associadas à resistência a Macrólidos. Por isso, é necessário um teste de suscetibilidade antimicrobiana fenotípica para confirmar a suscetibilidade ou resistência a macrólidos.

Este produto permite identificar uma possível coinfecção ou co-colonização por estirpes de *Mycoplasma genitalium* com e sem mutações associadas à resistência aos macrólidos. No entanto, no caso de coinfecções ou co-colonizações desequilibradas, os resultados dos testes fornecidos com este produto poderão identificar apenas a população predominante, quando esta for claramente prevalente.

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 29

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 29 (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 30

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 31

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). Proteja a **PCR Mix** da luz enquanto descongela. 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 32

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 33

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 34

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.	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

REF	Número de catálogo.
	Limite máximo da temperatura.
LOT	Código de lote.
	Prazo de validade (último dia do mês).
IVD	Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*.
CE 0123	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.
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 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 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.
eSWAB® é uma marca comercial registada da COPAN Italia S.p.A.

Appendix A Macrolide-R/MG 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 **Macrolide-R/MG 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 dos ácidos nucleicos qualitativo para a deteção de ADN de ***Mycoplasma genitalium*** **(MYG)** extraído de amostras clínicas e para identificação das principais mutações associadas à resistência aos Macrolídeos.

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

O produto destina-se a ser utilizado como um auxílio no diagnóstico de infeções do trato urogenital em pacientes com suspeita de infeção por *Mycoplasma genitalium*.

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

Sequência amplificada

Table 35

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
Alvo 1	23S rRNA	AP525	MYG
Internal Control	IC2	AP680	IC

Matriz validada

Table 36

› primeira urina colhida sem conservantes
› esfregaço cervico-vaginal

Conteúdo do Kit e produtos relacionados

Table 37

Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit (RTS401ING-48)	Macrolide-R/MG – ELITe Positive Control (CTR401ING)
 X 4	 X 3
R/MG PCR Mix 4 tubos de 280 µL 12 reações por tubo 48 reações por kit 7 ciclos de congelação-descongelação por tubo	**R/MG Positive Control** 3 tubos de 160 µL 4 reações por tubo 12 reações por kit 4 ciclos de congelação-descongelação

Table 37 (continued)

Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit (RTS401ING-48)		Macrolide-R/MG – ELITe Positive Control (CTR401ING)	
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

Table 38

› 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) **eSWAB ®** (COPAN Italia S.p.A., ref. 480CE), ou um dispositivo equivalente, para amostras de esfregaço cervico-vaginal

Protocolo do ELITe InGenius e do ELITe BeGenius

› Volume da amostra › Volume CPE › Volume de eluição total	200 µL (InGenius e BeGenius) ou 1000 µL (apenas InGenius) 10 µL 100 µL	› Volume de entrada de PCR eluato › Q—PCR Mix volume › Frequência dos controlos	20 µL 20 µL 15 dias

Desempenhos ELITe InGenius e ELITe BeGenius

Table 39

Matriz	Alvo	Limite de deteção	Sensibilidade	Especificidade
primeira urina	MYG	**247 organismos / mL**	98,5% **(65/66)**	100% **(55/55)**
concentrada primeira urina	MYG	**247 organismos / mL**	100% **(53/53)**	100% **(54/54)**
esfregaço cervico-vaginal	MYG	**247 organismos / mL**	100% **(89/89)**	100% **(104/104)**

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 40

Tipo de amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte/armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 ° C	-20 ±10 ° C	-70 ±15 ° C
primeira urina	colhidas sem conservantes	≤ 1 dia	≤ 2 dias	≤ 1 mês	≤ 1 mês
Esfregaços cervico-vaginais	eSwab® (COPAN) ou dispositivo equivalente, para amostras de esfregaço cervico-vaginal	≤ 2 dias	≤ 2 dias	≤ 1 mês	≤ 1 mês

Procedimentos ELITe InGenius

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

Antes da análise

Table 41

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: **R_MG Positive Control** e **R_MG Negative Control** no menu “Controls” (Controlos). Nota: Ambos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado.	**3.** Descongele a **R/MG PCR Mix** e os tubos de **CTRCPE**. Submeta a vórtice suave. Centrifugue durante 5 s.

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

Table 42

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: R_MG ELITe_U_200_100 ou R_MG ELITe_CS_200_100	**5.** Selecione o método “Extract + PCR” (Extrair+PCR) e a posição da amostra: Extraction Tube (Tubo de extração)	**6.** Carregue a PCR Mix e o 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)

Table 43

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: R_MG ELITe_U_200_100 ou R_MG ELITe_CS_200_100 ou R_MG ELITe_PC ou R_MG 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. Carregue: Rack de PCR Cassette e suporte de tubos de eluição com o ácido nucleico extraído	**8.** Feche a porta. Inicie a execução	**9.** Visualize, aprove e guarde os resultados

Procedimentos ELITe BeGenius

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

Antes da análise

Table 44

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 **R_MG Positive Control** e **R_MG Negative Control** no menu “Controls” (Controlos). Nota: Ambos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado.	**3.** Descongele os tubos de **R/MG PCR Mix** e **CTRCPE**. Submeta a vórtice suave. Centrifugue durante 5 s.

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

Table 45

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: R_MG ELITe_Be_U_200_100 ou R_MG ELITe_Be_CS_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 Elution Rack e insira-o na Cooler Unit	**6.** Carregue a PCR Mix e o Internal Control no Reagent/Elution Rack e insira-o na Cooler Unit
7. Carregue o “PCR Rack” com “PCR Cassette” e o “Extraction Rack” (rack de extração) com os cartuchos de extração “ELITe InGenius SP 200” e os consumíveis de extração necessários	**8.** Feche a porta. Iniciar a execução	**9.** Visualize, aprove e guarde os resultados

NOTE

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

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

Table 46

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 Elution Rack e insira-o na Cooler Unit	**3.** Para os Controlos: 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). 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: R_ MG ELITe_Be_U_200_100 ou R_MG ELITe_Be_CS_200_100 ou R_MG ELITe_Be_PC ou R_MG ELITe_Be_NC	**5.** Carregue a PCR Mix no rack de reagente/eluição e insira-o na Cooler Unit	**6.** Carregue o “PCR Rack” com “PCR Cassette”
7. Feche a porta. Iniciar a execução	**8.** Visualize, aprove e guarde os resultados	

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