

Instructions for use

GI Bacterial PLUS ELITe MGB® Kit

reagentes para PCR em tempo real do ADN



REF RTS502ING

UDI 08033891487447

CE **IVD**
0123

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Rev.	Aviso de alteração	Data (dd/mm/aa)
01	atualização do parágrafo “Símbolos” com o símbolo “Consulte as instruções de utilização” atualização do código de ref. da Minitip Flocked Swab atualização dos pontos 11.5 and 11.7: inibição Novos gráficos e definição de conteúdos das instruções de utilização.	29/11/24
00	desenvolvimento de novo produto	13/05/24

NOTE

A revisão destas instruções de utilização também é compatível com a versão anterior do kit

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 ELITE BeGenius	15
11 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	19
12 REFERÊNCIAS	36
13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	36
14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	37
15 SÍMBOLOS	39
16 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES	40
17 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	40
Appendix A QUICK START GUIDE	41

1 UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto **GI Bacterial PLUS 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 *Campylobacter* spp. (**Cam**), *Clostridium difficile* (também conhecido como *Clostridioides difficile*, **Cdif**), incluindo discriminação do ribotipo 027, *Salmonella* spp. (**Sal**), *Shigella* spp. (**Shi**), *Yersinia enterocolitica* (**Yen**) extraído de amostras clínicas.

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

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

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

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

2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO

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

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

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

3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO

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

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

A **GI-B PCR Mix** também contém tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótido e ADN Polimerase de início a quente.

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

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

4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Table 1

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

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).
- Termomisturador.
- Micropipetas e pontas estéreis com filtro de aerossol ou pontas de deslocação positiva estéreis (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tubos com tampa de rosca esterilizados de 2,0 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 72.694.005).
- Água de qualidade para biologia molecular.

6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

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

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

Table 2

Instrumentos e software	Produto e reagentes
<p>ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030).</p> <p>Software ELiTe InGenius versão 1.3.0.19 (ou mais recente).</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_PC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise de Negative Control</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_ST_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra nas fezes.</p>	<p>ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, ref. INT032SP200).</p> <p>ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, ref. INT032CS).</p> <p>ELiTe InGeniusPCR Cassette (EG SpA, ref. INT035PCR).</p> <p>ELiTe InGenius Waste Box (EG SpA, ref. F2102-000).</p> <p>300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S) com o ELiTe InGenius apenas.</p> <p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Switzerland, ref. 30180118) com o ELiTe BeGenius apenas.</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, ref. CTCPE).</p> <p>GI Bacterial PLUS - ELiTe Positive Control (EG SpA, ref. CTR502ING).</p> <p>InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Alemanha, ref. 19593) ou um dispositivo equivalente.</p> <p>Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Itália, ref. 501CS01) ou um dispositivo equivalente.</p> <p>FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Itália, ref. 470CE,) ou um dispositivo equivalente com meio Cary Blair.</p>
<p>ELiTe BeGenius (EG SpA, ref. INT040).</p> <p>Software ELiTe BeGenius versão 2.2.1 (ou mais recente).</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_PC, protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_NC, protocolo de ensaio com parâmetros para a análise de Negative Control.</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_ST_200_100, protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra nas fezes.</p>	

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.

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

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

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

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

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)
GI-B PCR Mix	-20°C ou inferior (protegido da luz)	um mês	até sete	até sete sessões separadas* de três horas cada ou até 7 horas consecutivas (2 sessões consecutivas de 3 horas cada e o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão)

*com congelamento intermédio

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
Fezes	colhidas sem conservantes	≤ 24 horas	≤ 48 horas	≤ 1 mês	≤ 2 meses
	colhidas em FecalSwab	≤ 48 horas	≤ 5 dias	≤ 1 mês	≤ 2 meses

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

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

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

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

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

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

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

Table 5 Protocolo de ensaio para o GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit

Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Fezes nativas ou Fezes colhidas em FecalSwab	ELITE InGenius	GI Bacterial PLUS ELITE_ST_200_100	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 de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITE BeGenius	GI Bacterial PLUS ELITE_Be_ST_200_100		

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

NOTE

A pipetagem de amostras para o **tubo de extração** ou para o **tubo Sarstedt de 2 mL** pode **gerar contaminação**. Utilize as pipetas adequadas e siga todas as recomendações reportadas em 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" em [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 **GI Bacterial PLUS - ELITE Positive Control** (não fornecido com este kit) com os protocolos de ensaio **GI Bacterial PLUS ELITE_PC** ou **GI Bacterial PLUS ELITE_Be_PC**.
- Para o Negative Control, utilize água de grau biológico molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio **GI Bacterial PLUS ELITE_NC** ou **GI Bacterial PLUS 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** e, nesse momento, é necessário voltar a executar os controlos positivos e negativos. Os Controlos da PCR devem ser novamente testados se ocorrer algum dos seguintes eventos:

- 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 **GI Bacterial PLUS 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 “Controls” (Controlos) na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**GI-B Positive Control**, **GI-B Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **GI-B PCR Mix** a ser utilizado.

Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote de **GI-B PCR Mix**, execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,

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

Se o Assay Protocol (Protocolo de 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 **GI Bacterial PLUS 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 do Positive Control e Negative Control (apenas PCR).

Todos os parâmetros requeridos estão incluídos no Assay Protocol (Protocolo de ensaio) disponível no instrumento e são automaticamente carregados quando o Assay Protocol (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 de **GI-B PCR Mix** necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para **12 testes** em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

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 Procedimentos do ELITE InGenius

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução de Controlo positivo e negativo (PCR Only [apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele até à temperatura ambiente. Pré-trate as amostras de acordo com o procedimento descrito na secção "Amostras e Controlos". Para este ensaio, 200 µL da amostra pré-tratada 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 "8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7"). 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 Procedimentos do ELite InGenius (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução de Controlo positivo e negativo (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, o tubo de eluição com amostras extraídas	Carregue a PCR Cassette, os tubos de 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 $-20 \pm 10^{\circ}\text{C}$ 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 (durante 2 sessões de 3 horas cada e o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão), misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a próxima sessão.

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 **GI-B 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 controlo interno 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 apresentados 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 **GI Bacterial PLUS 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 do 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 **GI Bacterial PLUS ELITE_PC** e **GI Bacterial PLUS ELITE_NC**. Os valores de Ct e Tm resultantes são usados para verificar o sistema (lote de reagentes e instrumento).

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

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

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

NOTE

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

NOTE

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

9.3.2 Validação dos resultados da amostra

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

Os resultados são mostrados no ecrã “Result Display”.

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

Table 8

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

Os resultados da amostra são automaticamente interpretados pelo **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 patogênicos foram detetados ou não detetados.

Table 9

Resultado da execução da amostra	Interpretação
Cam:DNA detected (Cam:ADN detetado).	O ADN de <i>Campylobacter</i> spp. foi detetado na amostra.
Cdif:DNA Detected (Cdif:ADN detetado).	O ADN de <i>Clostridioides difficile</i> foi detetado na amostra.
Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027 Cdif:ADN detetado de um possível ribotipo 027)	O ADN de <i>Clostridioides difficile</i>, possível ribotipo 027, foi detetado na amostra.
Sal:DNA Detected (Sal:ADN detetado).	O ADN de <i>Salmonella</i> spp. foi detetado na amostra.
Shi:DNA Detected (Shi:ADN detetado).	O ADN de <i>Shigella</i> spp. foi detetado na amostra.
Yen:DNA Detected (Yen:ADN detetado).	O ADN de <i>Yersinia enterocolitica</i> foi detetado na amostra.
Cam:DNA Not Detected or below the LoD (Cam:ADN não detetado ou abaixo de "LoD").	O ADN de <i>Campylobacter</i> spp. não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Campylobacter</i> spp. ou a sua concentração está abaixo do limite de detecção do ensaio.
Cdif:DNA Not Detected or below the LoD (Cdif:ADN não detetado ou abaixo de "LoD").	O ADN de <i>Clostridioides difficile</i> não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Clostridioides difficile</i> ou a sua concentração está abaixo do limite de detecção do ensaio.
Sal:DNA Not Detected or below the LoD (Sal:ADN não detetado ou abaixo de "LoD").	O ADN de <i>Salmonella</i> spp. não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Salmonella</i> spp. ou a sua concentração está abaixo do limite de detecção do ensaio.
Shi:DNA Not Detected or below the LoD (Shi:ADN não detetado ou abaixo de "LoD").	O ADN de <i>Shigella</i> spp. não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Shigella</i> spp. ou a sua concentração está abaixo do limite de detecção do ensaio.
Yen:DNA Not Detected or below the LoD (Yen:ADN não detetado ou abaixo de "LoD").	O ADN de <i>Yersinia enterocolitica</i> não foi detetado na amostra. A amostra é negativa para ADN de <i>Yersinia enterocolitica</i> ou a sua concentração está abaixo do limite de detecção 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 37](#)").

As amostras reportadas como “Xxx:DNA Not Detected or below the LoD” (Xxx:ADN não detetado ou abaixo de “LoD”) 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 19”).

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 ELITE BeGenius

O procedimento para uso do **GI Bacterial PLUS 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 do 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 “Controls” (Controlos) na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**GI-B Positive Control**, **GI-B Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote de **GI-B PCR Mix**, execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,
- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (ver “8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7”).

Se o Assay Protocol (Protocolo de 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 **GI Bacterial PLUS 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 Assay Protocols (Protocolo de ensaio) disponível no instrumento e são automaticamente carregados quando o Assay Protocol 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 de **GI-B PCR Mix** necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para **12 testes** em condições otimizadas (2 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

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 Procedimentos do ELite BeGenius

	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. Pré-trate as amostras de acordo com o procedimento descrito na secção "Amostras e Controlos". Para este ensaio, 200 µL da amostra pré-tratada devem ser transferidos para um 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. Cada tubo é suficiente para 4 reações. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2	Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Cada tubo é suficiente para 12 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.

Table 11 Procedimentos do ELite BeGenius (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair+PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [apenas PCR])	C. Execução do Positivo e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
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 Positivo 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	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume de entrada de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição extraído") é de 100 µL	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 200 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 100 µL.
10	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver 8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7).	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver 8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7).	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver 8 AMOSTRAS E CONTROLOS page 7).
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.		-
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 Procedimentos do ELite BeGenius (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" (suporte de PCR) com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).	Carregue o "PCR Rack" (suporte de PCR) com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).	Carregue o "PCR Rack" (suporte de PCR) com a "PCR Cassette" na Inventory Area (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 execução, a **PCR Mix** pode ser retirada do instrumento, tapada e armazenada a -20°C ou abaixo ou pode ser mantida na cooler unit durante até 7 horas (2 sessões de 3 horas cada e o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão), misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a próxima sessão.

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 **GI-B 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 controlo interno 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 **GI Bacterial PLUS 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 os instrumentos **ELite BeGenius** e **ELite InGenius**, testando amostras de fezes nativas reforçadas com material de referência *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 12 Limite de deteção

Agente patogénico	LdD	Limites de intervalo de 95% de confiança	
		Limite inferior	Limite superior
<i>Campylobacter jejuni</i>	72 CFU / mL	56 CFU / mL	115 CFU / mL
<i>Clostridioides difficile</i>	172 CFU / mL	129 CFU / mL	273 CFU / mL
<i>Salmonella enterica</i>	372 CFU / mL	268 CFU / mL	615 CFU / mL

Table 12 Limite de detecção (continued)

Agente patogénico	LdD	Limites de intervalo de 95% de confiança	
		Limite inferior	Limite superior
<i>Shigella flexneri</i>	337 CFU / mL	239 CFU / mL	573 CFU / mL
<i>Yersinia enterocolitica</i>	363 CFU / mL	255 CFU / mL	637 CFU / mL

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

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

11.2 Inclusividade: Eficiência de detecção em diferentes estirpes ou isolados

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

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 13 Resultados do teste de inclusividade

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

Table 13 Resultados do teste de inclusividade (continued)

Amostra	Pos. / Rep.	Resultado
<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. enterocolitica	6 / 6	Yen: ADN detetado
<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. palearctica	6 / 6	Yen: ADN detetado

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

11.3 Interferência entre alvos

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

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

Table 14 Resultados do teste de interferência entre os alvos

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

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

11.4 Organismos potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

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

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 15 Resultados do teste de reatividade cruzada com organismos

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

Table 15 Resultados do teste de reatividade cruzada com organismos (continued)

Organismo	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Escherichia coli</i> 92.0147	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Serratia marcescens</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Candida albicans</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Citrobacter freundii</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Clostridium nexile</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Proteus mirabilis</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Enterobacter cloacae</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Giardia lamblia</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Entamoeba histolytica</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Enterovírus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Adenovírus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Astrovírus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Norovírus G1	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Rotavírus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Sapovírus	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
<i>Clostridium disporicum</i>	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada

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

11.5 Organismos potencialmente interferentes: Inibição

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 16 Resultados do teste de inibição de organismos

Organismo	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Bacteroides fragilis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Vibrio cholerae</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Helicobacter pylori</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Escherichia coli</i> 92.0147	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Serratia marcescens</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Candida albicans</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Citrobacter freundii</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Clostridium nexile</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Proteus mirabilis</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Enterobacter cloacae</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Giardia lamblia</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Cryptosporidium parvum</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Entamoeba histolytica</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Enterovírus	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição

Table 16 Resultados do teste de inibição de organismos (continued)

Organismo	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Adenovírus	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Astrovírus	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Norovírus G1	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Rotavírus	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Sapovírus	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
<i>Clostridium disporicum</i>	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição

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

11.6 Substâncias potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 17 Resultados do teste de reatividade cruzada com substâncias

Substância	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Óleo de vaselina	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Nonoxynol-9	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Subsalicilato de bismuto	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Cloridrato de Loperamida	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Bisacodyl	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Azitromicina	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Vancomicina	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Metronidazol	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Ampicilina	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Cefpodoxime	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Ciprofloxacina	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Hidrocortisona	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Carbonato de cálcio	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada

Table 17 Resultados do teste de reatividade cruzada com substâncias (continued)

Substância	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Ácido algínico	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Hidróxido de alumínio	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Trissilicato de magnésio	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Sangue total	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Mucina	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Ácido palmítico	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada
Ácido esteárico	0 / 5	5 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	0 / 5	Sem reatividade cruzada

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

11.7 Substâncias potencialmente interferentes: Inibição

A potencial inibição de substâncias interferentes (endógenas e exógenas) que podem ser encontradas em amostras clínicas de fezes foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de substâncias em concentração relevante em amostras com *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* e *Yersinia enterocolitica* (DSMZ e ZeptoMetrix).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 18 Resultados do teste de inibição com substâncias

Substância	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Óleo de vaselina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Nonoxynol-9	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Subsalicilato de bismuto	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Cloridrato de Loperamida	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Bisacodyl	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Azitromicina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Vancomicina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Metronidazol	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Ampicilina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Cefpodoxime	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Ciprofloxacina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Hidrocortisona	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Carbonato de cálcio	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Ácido algínico	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição

Table 18 Resultados do teste de inibição com substâncias (continued)

Substância	Positivo/réplicas						Resultado
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Hidróxido de alumínio	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Trissilicato de magnésio	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Sangue total	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Mucina	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Ácido palmítico	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição
Ácido esteárico	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Ausência de inibição

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

11.8 Contaminação cruzada

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 19 Resultados do teste de contaminação cruzada

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

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

11.9 Falha de todo o sistema

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 20 Resultados do teste de taxa de falha de todo o sistema

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

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

11.10 Repetibilidade

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

Um exemplo dos resultados da repetibilidade intra-sessão (em um dia) no ELITE BeGenius são mostrados nas tabelas seguintes.

Table 21 Exemplo de resultados do teste de repetibilidade intra-sessão (BeGenius, em um dia)

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

Um exemplo de repetibilidade intra-sessão (em um dia) no ELITE InGenius são mostrados nas tabelas seguintes.

Table 22 Exemplo de resultados do teste de repetibilidade intra-sessão (InGenius, em um dia)

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

Um exemplo de repetibilidade inter-sessão (em dois dias) no ELITE BeGenius são mostrados nas tabelas seguintes.

Table 23 Exemplo de resultados do teste de repetibilidade inter-sessão (BeGenius, em dois dias)

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	%Concordância
Neg	Cdif (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		12	35,22	0,21	0,60	100%
	Cdif (Tm)	12	59,3	0,26	0,45	100%
Neg	Cam (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	32,59	0,38	1,15	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	34,88	0,40	1,15	100%
3xLoD SS		12	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	35,69	0,93	2,61	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	12	-	-	-	100%
3xLoD CY		12	-	-	-	100%
3xLoD SS		12	34,47	1,01	2,94	100%
3 vezes LdD Cdif		12	-	-	-	100%

Um exemplo de repetibilidade inter-sessão (em dois dias) no ELite InGenius são mostrados nas tabelas seguintes.

Table 24 Exemplo de resultados do teste de repetibilidade inter-sessão (InGenius, em dois dias)

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

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

11.11 Reprodutibilidade

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

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

Table 25 Resultados do teste de reprodutibilidade inter-lote (BeGenius, em seis dias e três lotes)

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	% Concordância
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	35,08	0,35	1,01	100%
	Cdif (Tm)	36	59,2	0,33	0,56	100%
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	31,92	0,60	1,87	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	34,94	0,47	1,35	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	35,71	0,85	2,37	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	34,61	0,82	2,38	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%

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

Table 26 Resultados do teste de reprodutibilidade inter-lote (InGenius, em seis dias e três lotes)

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

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

Table 27 Resultados do teste de reprodutibilidade inter-instrumento (BeGenius, em seis dias, três lotes e três instrumentos)

Amostra	Alvo	N	Média	SD	%CV	% Concordância
Neg	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	34,97	0,33	0,95	100%
	Cdif (Tm)	36	59,1	0,28	0,48	100%
Neg	Cam (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	32,29	0,44	1,36	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Yen (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	35,91	0,59	1,64	100%
3xLoD SS		36	-	-	-	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Sal (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	36,05	0,81	2,24	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%
Neg	Shi (Ct)	36	-	-	-	100%
3xLoD CY		36	-	-	-	100%
3xLoD SS		36	34,75	1,29	3,71	100%
3 vezes LdD Cdif		36	-	-	-	100%

Os resultados da reprodutibilidade inter-instrumento (em seis dias, três lotes e três instrumentos) no ELITE InGenius são mostrados na tabela abaixo.

Table 28 Resultados do teste de reprodutibilidade inter-instrumento (InGenius, em seis dias, três lotes e três instrumentos)

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

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

11.12 Especificidade do diagnóstico: Confirmação de amostras negativas

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

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

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

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

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

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

11.13 Sensibilidade de diagnóstico: Confirmação de amostras positivas

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

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

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

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

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 "GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit", FTP 502ING.

12 REFERÊNCIAS

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

13 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

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

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

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

Os resultados obtidos com este produto dependem 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 Positive Control 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 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 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 19](#)). 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 19](#)).

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.

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

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, os resultados obtidos com este produto 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. Em alguns casos, este risco residual pode contribuir para decisões erradas com potenciais efeitos perigosos para o doente. No entanto, este risco residual associado à utilização prevista do produto foi ponderado em relação aos potenciais benefícios para o paciente e foi considerado aceitável.

14 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Table 31

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

Table 32

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição de PCR Mix e 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 do PCR Mix.	Utilize uma nova alíquota da PCR Mix.

Table 32 (continued)

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
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 batatas 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 pré-tratada numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 34

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 35

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

Table 36

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

15 SÍMBOLOS



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 doente se encontram localizados. No momento da revisão atual das IDU, não ocorreu nenhum incidente grave ou recolha de segurança com impacto no desempenho do produto e na segurança do dispositivo.

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 Kit® são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos EUA 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 e números de patente EP 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 bem como candidaturas 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.

Minitip Flocked Swab® é marca registada da COPAN Italia S.p.A., FecalSwab™ é marca registada da COPAN Italia S.p.A.

Appendix A GI Bacterial PLUS 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 **GI Bacterial PLUS 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 *Campylobacter* spp. (**Cam**), *Clostridium difficile* (também conhecido como *Clostridioides difficile*, **Cdif**), incluindo discriminação do ribotipo 027, *Salmonella* spp. (**Sal**), *Shigella* spp. (**Shi**), *Yersinia enterocolitica* (**Yen**) extraído de amostras clínicas.

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

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

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

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



Sequência amplificada

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
Alvo 1	16s rRNA	AP639	Cam
Alvo 2	tcdB	FAM	Cdif
Alvo 3	invA	AP690	Sal
Alvo 4	ipaH	AP593	Shi
Alvo 5	foxA	AP559	Yen
Internal Control	IC2	AP525	CI

Matriz validada

- Fezes nativas colhidas sem conservantes
- Fezes colhidas em FecalSwab (meio modificado Cary Blair)

Conteúdo do Kit e produtos relacionados

GI Bacterial PLUS ELiTe MGB Kit (RTS502ING)		GI Bacterial PLUS - ELiTe Positive Control (CTR502ING)	
 X 8		 X 3	
GI-B PCR Mix 8 tubos de 280 µL 12 reações por tubo 96 reações por kit 7 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo		GI-B Positive Control 3 tubos de 160 µL 4 reações por tubo 12 reações por kit 4 ciclos de congelamento-descongelamento	
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

<ul style="list-style-type: none"> Instrumento ELiTe InGenius: INT030. Instrumento ELiTe BeGenius: INT040. ELiTe InGenius SP 200: INT032SP200. ELiTe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. ELiTe InGenius PCR Cassette: INT035PCR. ELiTe InGenius Waste Box: F2102-000. Pontas de filtro Axigen de 300 µL: TF-350-L-R-S. Pontas de filtro Tecan de 1000 µL: 30180118. 	<ul style="list-style-type: none"> CPE - Controlo interno: CTCPE InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Alemanha, ref. 19593) ou um dispositivo equivalente. Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Itália, ref. 501CS01) ou um dispositivo equivalente. FecalSwab™ (COPAN Italia S. p. A., Itália, ref. 470CE) ou um dispositivo equivalente.
--	---

Protocolo ELiTe InGenius e ELiTe BeGenius

<ul style="list-style-type: none"> Volume da amostra Volume CPE Volume de eluição total 	200 µL 10 µL 100 µL	<ul style="list-style-type: none"> Volume de entrada de PCR eluato Volume de PCR Mix Frequência dos controlos 	10 µL 20 µL 15 dias
--	---------------------------	--	---------------------------

Desempenhos ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Matriz	Alvo	Limite de detecção	Sensibilidade	Especificidade
Fezes nativas/fezes colhidas em FecalSwab	Cam	72 CFU / mL	100% (100/100)	99,6% (266/267)
	Cdif	172 CFU / mL	96,3% (52/54)	99,3% (291/293)
	Sal	372 CFU / mL	100% (56/56)	99,4% (312/314)
	Shi	337 CFU / mL	100% (53/53)	100% (338/338)
	Yen	363 CFU / mL	100% (51/51)	99,4% (330/332)

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
Fezes nativas colhidas sem conservantes	≤ 24 horas	≤ 48 horas	≤ 1 mês	≤ 2 meses
Fezes colhidas em FecalSwab (meio modificado Cary Blair)	≤ 48 horas	≤ 5 dias	≤ 1 mês	≤ 2 meses

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: GI Bacterial PLUS ELITE_ST_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: GI Bacterial PLUS ELiTe_ST_200_100 ou GI Bacterial PLUS ELiTe_PC ou GI Bacterial PLUS 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 BeGenius. Inicie sessão com o nome de utilizador e a palavra-passe. Selecione o modo " CLOSED " (Fechado).	2. Verifique os controlos: UroGen Positive Control e UroGen Negative Control no menu "Controls" (Controlos). Nota: Ambos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado.	3. Descongele os tubos UroGen PCR Mix e CTR CPE (se necessário). 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: GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_ST_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. Verifique os volumes de extração: Entrada: "200 µL", eluato: "100 µL"
4. Selecione o "Assay protocol" (Protocolo de ensaio) de interesse: GI Bacterial PLUS ELITE_Be_ST_200_100 ou GI Bacterial PLUS ELITE_Be_PC ou GI Bacterial PLUS 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

