



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALIA

Uffici: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11

E-mail: emd.support@elitechgroup.com

Sito internet: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 23/09/2022

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HIV1 ELITe MGB Kit» Ref. RTK600ING

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

- *Extension of the use of the product in association with «ELITe BeGenius®» instrument (REF INT040).*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS

HIV1 ELITe MGB® Kit

réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et
l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

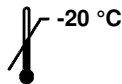


TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	page 1
PRINCIPES DU TEST	page 2
DESCRIPTION DU PRODUIT	page 3
MATÉRIEL FOURNI	page 4
MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	page 4
AUTRES PRODUITS REQUIS	page 5
AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	page 6
ELITE INGENIUS®	page 8
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	page 8
PROCÉDURE	page 9
ELITE BEGENIUS®	page 18
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	page 18
PROCÉDURE	page 19
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE DES SYSTÈMES ELITE INGENIUS® et ELITE BEGENIUS®	page 25
BIBLIOGRAPHIE	page 43
LIMITES DE LA PROCÉDURE	page 43
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	page 45
LÉGENDE DES SYMBOLES	page 47
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	page 48
ANNEXE	page A

APPLICATION

Le produit « **HIV1 ELITe MGB® Kit** » est un test quantitatif de transcription inverse et d'amplification des acides nucléiques pour la **détection et la quantification de l'ARN** du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (**VIH1**) dans des échantillons d'ARN extraits d'échantillons cliniques.

Le test est capable de détecter l'ARN du VIH1 appartenant au groupe M (sous-types A, B, C, D, F, G, H, J, K, L), au groupe O, au groupe N et les principaux sous-types de CRF – à savoir, CRF01-AE, CRF02-AG et CRF03-AB.

Le test a été validé en association avec les systèmes « **ELITe InGenius®** » et « **ELITe BeGenius®** » à partir d'échantillons de plasma humain prélevé sur EDTA ou ACD.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide à la prise en charge des individus infectés par le VIH1 recevant une thérapie antirétrovirale, en association avec les données cliniques du patient et d'autres résultats d'analyse de laboratoire.

HIV1 ELITe MGB® Kit

réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

Ce produit n'est pas destiné à être utilisé comme un test de dépistage de la présence du VIH1 dans le sang ou les produits sanguins, ou comme un test diagnostique pour confirmer la présence d'une infection par le VIH1.

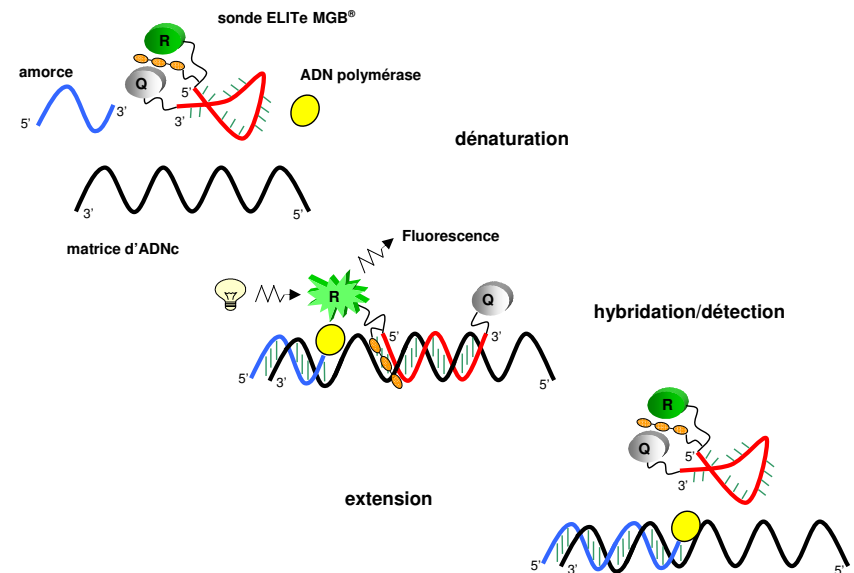
PRINCIPE DU TEST

Le test consiste en une réaction de transcription inverse et d'amplification en temps réel (méthode en une seule étape) sur les systèmes **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius**, un système intégré et automatisé d'extraction, de transcription inverse, d'amplification et de détection des acides nucléiques, et d'interprétation des résultats.

À partir de l'ARN extrait de l'échantillon à tester à l'aide des systèmes **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius**, le mélange complet HIV1 PCR Mix effectue une réaction de transcription inverse et d'amplification spécifique au gène de la polymérase (région de l'intégrase) du VIH1 et à une région de l'ARN génomique du phage MS2 (contrôle interne exogène d'extraction et d'inhibition).

Les sondes spécifiques au VIH1 dotées de la technologie **ELITe MGB®** et **TaqMan™ MGB®**, marquée par le fluorophore FAM, sont activées lorsqu'elles s'hybrident avec le produit spécifique de la réaction d'amplification du VIH1. La sonde spécifique au contrôle interne dotée de la technologie **ELITe MGB®**, marquée par le fluorophore AP525, est activée lorsqu'elle s'hybride avec le produit spécifique de la réaction d'amplification du contrôle interne. Lorsque le produit spécifique de la réaction d'amplification augmente, l'émission de fluorescence augmente également et est mesurée et enregistrée par l'instrument. Le traitement des données détermine la présence et le titre de l'ARN du VIH1 dans l'échantillon.

Les images suivantes illustrent de manière synthétique le mécanisme d'activation et l'émission de la fluorescence de la sonde dotée de la technologie **ELITe MGB®**.



DESCRIPTION DU PRODUIT

Le produit **HIV1 ELITe MGB Kit** fournit les composants suivants :

• HIV1 ELITe MGB® Mix

Ce composant fournit les deux sous-composants suivants :

- Le « **HIV1 PCR Mix** », un mélange optimisé et stabilisé d'oligonucléotides et de réactifs pour la transcription inverse et l'amplification en temps réel, pré-aliquoté dans **quatre tubes à essai** (capuchon BLANC). Chaque tube contient **600 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **24 tests** (traitement d'au moins 5 échantillons par session d'analyse) en association avec les systèmes **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius**.

Les amorces et les sondes pour le VIH1 (stabilisées par le groupe MGB®, marquées par le fluorophore FAM et désactivées par un fragment non fluorescent « Eclipse ») sont spécifiques au gène de la polymérase (région de l'intégrase) du VIH1. Le signal du VIH1 est détecté par le Canal 1 (HIV1) des systèmes **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius**.

Les amorces et la sonde pour le contrôle interne (stabilisées par le groupe MGB®, marquées par le fluorophore AP525 et désactivées par un fragment non fluorescent « Eclipse ») sont spécifiques à une région de l'ARN génomique du phage **MS2**. Le signal du contrôle interne est détecté par le Canal 2 (IC) des systèmes **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius**.

Le mélange réactionnel fournit également le tampon, du chlorure de magnésium, les nucléotides triphosphates et l'enzyme ADN polymérase « hot start » (démarrage à chaud).

- Le « **RT EnzymeMix** », un mélange optimisé et stabilisé d'enzymes pour la transcription inverse, pré-aliquoté dans **deux tubes à essai** (capuchon avec un insert NOIR). Chaque tube contient **20 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **48 tests** (traitement d'au moins 5 échantillons par session d'analyse) en association avec les systèmes **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius**.

Les deux sous-composants permettent d'effectuer **96 tests en association avec les systèmes ELITe InGenius et ELITe BeGenius**, en utilisant respectivement 20 µL et 0,3 µL pour la réaction.

• HIV1 ELITe Standard

Ce composant fournit les sous-composants « **HIV1 Q-PCR Standard** », quatre solutions stabilisées d'ADN plasmidique ayant un **titre connu**, chacune étant aliquotée dans **un tube à essai prêt à l'emploi**. Chaque tube contient **160 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **2 sessions d'analyse**. L'ADN plasmidique contient une région du gène de la polymérase du VIH1. La détection et la quantification de l'ADN du VIH1 résultant de l'analyse avec le composant **HIV1 ELITe MGB Mix** en association avec les instruments **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** permet de calculer la courbe d'étalonnage du système (lot du produit et instrument) pour la quantification du VIH1.

La concentration d'ADN plasmidique en copies/mL a été déterminée par une mesure de l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre. Cette concentration d'ADN plasmidique est liée au « 4^e étalon international de l'OMS pour le VIH1 » (NIBSC, Royaume-Uni, code 16/194) par un facteur de conversion afin de calculer la concentration en unité internationale/mL (UI/mL).

Le composant permet d'effectuer **2 sessions d'analyse distinctes en association avec les systèmes ELITe InGenius et ELITe BeGenius**, en utilisant 20 µL pour la réaction.

• HIV1 - ELITe Positive Control

Ce composant fournit le sous-composant « **HIV1 Positive Control** », une solution stabilisée d'ADN plasmidique ayant un **titre connu**, aliquotée dans **deux tubes à essai prêts à l'emploi**. Chaque tube à essai contient **160 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **4 sessions d'analyse**. L'ADN plasmidique contient une région du gène de la polymérase du VIH1. La détection et la quantification de l'ADN cible résultant de l'analyse avec le composant **HIV1 ELITe MGB Mix** en association avec les instruments **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** permet de valider le système (lot du produit et instrument) pour la détection et la quantification du VIH1.

Le composant permet d'effectuer **8 sessions d'analyse distinctes en association avec les systèmes ELITe InGenius et ELITe BeGenius**, en utilisant 20 µL pour la réaction.

• HIV1 Internal Control

Ce composant fournit le sous-composant « **HIV1 CPE** », une solution stabilisée d'ARN génomique du phage MS2 aliquotée dans **huit tubes à essai prêts à l'emploi**. Chaque tube contient **160 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **12 tests** (traitement d'au moins 2 échantillons par session d'analyse). L'ARN génomique du phage MS2 est utilisé en tant que matrice de contrôle interne exogène. La détection de l'ADNc du phage MS2 résultant de l'analyse avec le composant **HIV1 ELITe MGB Mix** en association avec les instruments **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** permet de valider les résultats des échantillons négatifs pour le VIH1.

Le composant permet d'effectuer **96 tests en association avec les systèmes ELITe InGenius et ELITe BeGenius**, en utilisant 10 µL pour l'extraction.

MATÉRIEL FOURNI

Composant	Sous-composant	Description	Quantité	Classification des risques
HIV1 ELITe MGB Mix réf. RTS600ING	HIV1 PCR Mix réf. RTS600ING	mélange de réactifs pour la transcription inverse et l'amplification en temps réel dans un tube doté d'un capuchon BLANC	4 x 600 µL	-
	RT EnzymeMix réf. RTS003-RT	enzymes pour la transcription inverse dans un tube doté d'un capuchon avec un insert NOIR	2 x 20 µL	-
HIV1 ELITe Standard réf. STD600ING	HIV1 Q-PCR Standard 10 ⁵ réf. STD600ING-5	solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon ROUGE	1 x 160 µL	-
	HIV1 Q-PCR Standard 10 ⁴ réf. STD600ING-4	solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon BLEU	1 x 160 µL	
	HIV1 Q-PCR Standard 10 ³ réf. STD600ING-3	solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon VERT	1 x 160 µL	
	HIV1 Q-PCR Standard 10 ² réf. STD600ING-2	solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon JAUNE	1 x 160 µL	
HIV1 - ELITe Positive Control réf. CTR600ING	HIV1 Positive Control réf. CTR600ING	solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon NOIR	2 x 160 µL	-
HIV1 Internal Control réf. CPE600ING	HIV1 CPE réf. CPE600ING	Solution d'ADN plasmidiques et d'ARN génomique du phage MS2 dans un tube doté d'un capuchon NEUTRE	8 x 160 µL	-

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.
- Agitateur de type vortex.
- Microcentrifugeuse de paillasse (12 000 - 14 000 tr/min).
- Micropipettes et cônes stériles avec filtre pour les aérosols ou cônes stériles à déplacement positif 0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tube Sarstedt de 2,0 mL à capuchon vissant, à collerette (Sarstedt Réf. 72.694.005).
- Eau de qualité biologie moléculaire.

AUTRES PRODUITS REQUIS

Les réactifs pour l'extraction de l'ARN des échantillons à analyser et les consommables ne sont **pas** inclus dans ce produit.

Pour l'extraction automatique des acides nucléiques, la transcription inverse, l'amplification en temps réel et l'interprétation des résultats des échantillons à analyser, il est nécessaire d'utiliser l'instrument **ELITe InGenius** (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, réf. INT030) et les protocoles de test spécifiques suivants (EG SpA) :

- paramètres pour l'amplification des calibrateurs « **HIV1 ELITe STD** »,
- paramètres pour l'amplification du contrôle positif « **HIV1 ELITe PC** »,
- paramètres pour l'amplification du contrôle négatif « **HIV1 ELITe NC** »,
- paramètres pour les échantillons de plasma à analyser « **HIV1 ELITe PL_600_50** ».

Les produits génériques suivants sont requis avec l'instrument **ELITe InGenius** :

- cartouches d'extraction « **ELITe InGenius® SP 1000** » (EG SpA, réf. INT033SP1000),
- consommables pour l'extraction « **ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set** » (EG SpA, réf. INT032CS),
- cartouches d'amplification « **ELITe InGenius® PCR Cassette** » (EG SpA, réf. INT035PCR),
- cônes « **300 µL Filter Tips Axygen** » (Axygen BioScience Inc., CA, États-Unis, réf. TF-350-L-R-S),
- conteneurs « **ELITe InGenius® Waste Box** » (EG SpA, réf. F2102-000).

Pour l'extraction automatique des acides nucléiques, l'amplification en temps réel et l'interprétation des résultats des échantillons à analyser, il est nécessaire d'utiliser l'instrument **ELITe BeGenius** (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, réf. INT040) et les protocoles de test spécifiques suivants (EG SpA) :

- paramètres pour l'amplification des calibrateurs « **HIV1 ELITe Be STD** »,
- paramètres pour l'amplification du contrôle positif « **HIV1 ELITe Be PC** »,
- paramètres pour l'amplification du contrôle négatif « **HIV1 ELITe Be NC** »,
- paramètres pour les échantillons de plasma à analyser « **HIV1 ELITe Be PL_600_50** ».

Les produits génériques suivants sont requis avec l'instrument **ELITe BeGenius** :

- cartouches d'extraction « **ELITe InGenius® SP 1000** » (EG SpA, réf. INT033SP1000),
- consommables pour l'extraction « **ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set** » (EG SpA, réf. INT032CS),
- cartouches d'amplification « **ELITe InGenius® PCR Cassette** » (EG SpA, réf. INT035PCR),
- cônes « **1000 µL Filter Tips Tecan** » (Tecan, Suisse, réf. 30180118),
- conteneurs « **ELITe InGenius® Waste Box** » (EG SpA, réf. F2102-000).

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Ce produit est exclusivement réservé à une utilisation *in vitro*.

Avertissements et précautions d'ordre général

Manipuler et mettre au rebut tous les échantillons biologiques comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Éviter tout contact direct avec les échantillons biologiques. Éviter de provoquer des éclaboussures ou des pulvérisations. Le matériel qui a été en contact avec les échantillons biologiques doit être traité pendant au moins 30 minutes avec de l'hypochlorite de sodium à 3 % ou autoclavé pendant une (1) heure à 121 °C avant d'être mis au rebut.

Manipuler et mettre au rebut tous les réactifs et l'ensemble du matériel qui ont été utilisés pour réaliser le test comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Éviter tout contact direct avec les réactifs. Éviter de provoquer des éclaboussures ou des pulvérisations. Les déchets doivent être manipulés et éliminés dans le respect des normes de sécurité adéquates. Le matériel combustible jetable doit être incinéré. Les déchets liquides contenant des acides ou des bases doivent être neutralisés avant d'être éliminés.

Porter des vêtements et des gants de protection appropriés et se protéger les yeux et le visage.

Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.

Ne pas manger, boire, fumer ou appliquer de produits cosmétiques dans les zones de travail.

Se laver soigneusement les mains après toute manipulation des échantillons et des réactifs.

Éliminer les réactifs restants et les déchets conformément aux réglementations en vigueur.

Lire attentivement toutes les instructions fournies avec le produit avant d'exécuter le test.

Lors de l'exécution du test, suivre les instructions fournies avec le produit.

Ne pas utiliser le produit au-delà de la date de péremption indiquée.

Utiliser uniquement les réactifs fournis avec le produit et ceux recommandés par le fabricant.

Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.

Ne pas utiliser de réactifs commercialisés par d'autres fabricants.

Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

Les procédures de biologie moléculaire exigent du personnel qualifié et dûment formé pour éviter tout risque de résultats erronés, en particulier ceux dus à la dégradation des acides nucléiques contenus dans les échantillons ou à la contamination des échantillons par les produits d'amplification.

Il est nécessaire d'utiliser des blouses de laboratoire, des gants et des instruments dédiés à la session de travail.

Les échantillons doivent être adaptés et, si possible, dédiés à ce type d'analyse. Les échantillons doivent être manipulés sous une hotte à flux laminaire. Les pipettes utilisées pour manipuler les échantillons doivent être exclusivement utilisées à cette fin spécifique. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou être utilisées avec des cônes dotés d'un filtre pour les aérosols. Les cônes utilisés doivent être stériles, exempts de DNases et de RNases, et exempts d'ADN et d'ARN.

Les réactifs doivent être manipulés sous une hotte à flux laminaire. Les réactifs nécessaires pour la session d'analyse doivent être préparés de manière à pouvoir être utilisés au cours d'une seule journée. Les pipettes utilisées pour la manipulation des réactifs doivent être utilisées exclusivement à cette fin. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou être utilisées avec des cônes dotés d'un filtre pour les aérosols. Les cônes utilisés doivent être stériles, exempts de DNases et de RNases, et exempts d'ADN et d'ARN.

Les produits d'extraction doivent être manipulés de manière à réduire au maximum la dispersion dans l'environnement afin d'éviter tout risque de contamination.

Les cassettes de PCR doivent être manipulées de sorte à éviter la diffusion des produits d'amplification dans l'environnement, et toute contamination des échantillons et des réactifs.

Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

- **HIV1 ELITe MGB Mix**

Le **HIV1 PCR Mix** doit être conservé à une température inférieure à -20 °C dans l'obscurité.

Le **HIV1 PCR Mix** doit être utilisé dans le mois qui suit l'ouverture du premier tube.

Le **HIV1 PCR Mix** peut être congelé et décongelé **cinq fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

Le **RT EnzymeMix** doit être conservé à une température inférieure à -20 °C.

Le **RT EnzymeMix** doit être utilisé dans le mois qui suit l'ouverture du premier tube.

Le **RT EnzymeMix** ne doit pas être exposé à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes à chaque utilisation.

Le **HIV1 Q-PCR Standard** ne doit pas être exposé à des températures supérieures à -20 °C à plus de **dix reprises** : des utilisations supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

- **HIV1 ELITe Standard**

Le **HIV1 Q-PCR Standard** doit être conservé à une température inférieure à -20 °C.

Le **HIV1 Q-PCR Standard** doit être utilisé dans le mois qui suit l'ouverture du premier tube.

Le **HIV1 Q-PCR Standard** peut être congelé et décongelé **deux fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction du titre.

Le **HIV1 Q-PCR Standard** peut être conservé dans les instruments **ELITe InGenius** ou **ELITe BeGenius** pendant un maximum de **deux sessions de travail indépendantes de deux heures chacune** (mode d'analyse « PCR uniquement » [PCR Only]).

- **HIV1 - ELITe Positive Control**

Le **HIV1 Positive Control** doit être conservé à une température inférieure à -20 °C.

Le **HIV1 Positive Control** doit être utilisé dans le mois qui suit l'ouverture du premier tube.

Le **HIV1 Positive Control** peut être congelé et décongelé **quatre fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

Le **HIV1 Positive Control** peut être conservé dans les instruments **ELITe InGenius** ou **ELITe BeGenius** pendant un maximum de **quatre sessions de travail indépendantes de trois heures chacune** [mode d'analyse « Extract + PCR Only » (Extraction + PCR uniquement)].

- **HIV1 Internal Control**

Le **HIV1 CPE** doit être conservé à une température inférieure à -20 °C.

Le **HIV1 CPE** doit être utilisé dans le mois qui suit l'ouverture du premier tube.

Le **HIV1 CPE** peut être congelé et décongelé **douze fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

Le **HIV1 CPE** peut être conservé dans les instruments **ELITe InGenius** ou **ELITe BeGenius** pendant un maximum de **six sessions de travail indépendantes de trois heures chacune** [mode d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR)].

ELITe InGenius

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

Ce produit doit être utilisé avec les échantillons cliniques suivants :

Plasma prélevé sur EDTA ou ACD

Les échantillons de plasma pour l'extraction des acides nucléiques doivent être prélevés sur EDTA ou ACD et identifiés conformément aux directives du laboratoire, et doivent être transportés et conservés à température ambiante (entre +18 et +25 °C) pendant 24 heures au maximum ou entre +2 et +8 °C pendant 3 jours au maximum. Sinon, ils doivent être congelés et conservés à -20 °C pendant 1 mois au maximum ou à -70 °C pendant 6 mois.

Il est recommandé de diviser les échantillons en aliquotes avant la congélation afin d'éviter des cycles répétés de congélation et de décongélation. En cas d'utilisation d'échantillons congelés, les décongeler juste avant l'extraction afin d'éviter une éventuelle dégradation des acides nucléiques.

Remarque : l'extraction d'ARN à partir de plasma prélevé sur EDTA ou ACD est effectuée à l'aide du système **ELITe InGenius** et du logiciel **ELITe InGenius** version 1.3 (ou versions ultérieures équivalentes) en utilisant le protocole de test **HIV1 ELITe_PL_600_50**. Ce protocole comprend le traitement de 600 µL d'échantillon, en commençant à partir du tube secondaire, l'ajout du **HIV1 CPE** (contrôle interne) à raison de 10 µL par extraction, et l'élution des acides nucléiques dans 50 µL. Le tube primaire ne peut pas être utilisé en association avec le protocole de test.

Les acides nucléiques purifiés peuvent être conservés à -20 °C pendant un mois.

Autres échantillons

Il n'existe actuellement aucune donnée disponible en ce qui concerne les performances du produit avec d'autres échantillons cliniques tels que sang total, sérum, ou LCR.

Substances interférentes

Les données disponibles concernant l'inhibition provoquée par les médicaments et d'autres substances sont fournies au paragraphe « Substances potentiellement interférentes » de la section « Caractéristiques de performance ».

Ne pas utiliser de plasma prélevé sur héparine afin de prévenir l'inhibition de la réaction d'amplification et de fréquents résultats non valides.

Contrôles d'amplification

Avant d'analyser un échantillon, il est absolument indispensable de générer et d'approuver la courbe d'étalonnage et les contrôles d'amplification pour chaque lot de réactifs d'amplification :

- à titre de jeu de calibrateurs, utiliser les quatre niveaux de concentration du composant **HIV1 ELITe Standard** inclus dans ce kit, en association avec le protocole de test **HIV1 ELITe STD**,
- à titre de contrôle positif d'amplification, utiliser le composant **HIV1 - ELITe Positive Control** inclus dans ce kit, en association avec le protocole de test **HIV1 ELITe PC**,
- à titre de contrôle négatif d'amplification, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) en association avec le protocole de test **HIV1 ELITe NC**.

Remarque : le système **ELITe InGenius** exige que les résultats de la courbe d'étalonnage et des contrôles d'amplification soient approuvés et valides pour chaque lot de réactifs d'amplification stocké dans sa base de données.

Les courbes d'étalonnage, approuvées et stockées dans la base de données, expirent au bout de **60 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser les étalons Q-PCR Standards en association avec le lot de réactifs d'amplification.

Les résultats des contrôles d'amplification, approuvés et stockés dans la base de données, expirent au bout de **15 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser les contrôles positif et négatif en association avec le lot du réactif d'amplification.

En outre, les calibrateurs et les contrôles d'amplification doivent être réanalysés lorsque :

- un nouveau lot de réactifs est utilisé,
- les résultats de l'analyse du contrôle de qualité (se reporter au paragraphe suivant) sont en dehors des spécifications,
- l'instrument **ELITe InGenius** subit une procédure de maintenance majeure.

Contrôles de qualité

Il est recommandé de planifier la validation de la procédure d'extraction et d'amplification. À cette fin, il est possible d'utiliser les échantillons testés ou un matériel de référence certifié. Les contrôles externes doivent être utilisés conformément aux exigences des organismes d'accréditation locaux, régionaux et nationaux en vigueur.

PROCÉDURE

La procédure d'utilisation du **HIV1 ELITe MGB Kit** avec le système **ELITe InGenius** comporte trois étapes :

- Vérification de la préparation du système,
- Paramétrage de la session d'analyse,
- Examen et exportation des résultats.

Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse, en se référant à la documentation de l'instrument, il est nécessaire de :

- mettre le système **ELITe InGenius** en marche et sélectionner le mode de connexion « **FERMÉ** » (CLOSED),
- vérifier que les calibrateurs (**HIV1 Q-PCR Standard**) ont été analysés, sont approuvés et ne présentent pas le statut (Status) Expiré en association avec le lot de réactifs d'amplification à utiliser. En l'absence de calibrateurs approuvés ou valides, il convient de les analyser comme décrit aux paragraphes suivants ;
- vérifier que les contrôles d'amplification (**HIV1 Positive Control**, **HIV1 Negative Control**) ont été analysés, sont approuvés et ne présentent pas le statut (Status) Expiré en association avec le lot de réactifs d'amplification à utiliser. En l'absence de contrôles d'amplification approuvés ou valides, il convient de les analyser comme décrit aux paragraphes suivants,
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique utilisateur (GUI) concernant le paramétrage de la session d'analyse et en utilisant les protocoles de test fournis par ELITechGroup S.p.A. Ces protocoles de DIV ont été spécifiquement validés avec les kits **ELITe MGB** et l'instrument **ELITe InGenius** et la matrice indiquée.

Les protocoles de test disponibles pour tester des échantillons à l'aide du produit **HIV1 ELITe MGB Kit** sont décrits dans le tableau ci-dessous :

Protocole de test pour le HIV1 ELITe MGB Kit avec le système ELITe InGenius			
Nom	Matrice	Rapport	Caractéristiques
HIV1 ELITe_PL_600_50	Plasma	Positif/copies/mL/ UI/mL/Négatif	Volume d'extraction initial : 600 µL Volume d'éluat extrait : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1,7 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de l'échantillon PCR : 20 µL

Si le protocole de test d'intérêt n'est pas chargé dans le système, contacter le service clientèle ELITechGroup local.

Paramétrage de la session d'analyse

Le produit **HIV1 ELITe MGB Kit** peut être utilisé avec le système **ELITe InGenius** pour les opérations suivantes :

- Analyse intégrée (« Extract + PCR » [Extraction + PCR]),
- Analyse d'amplification (« PCR Only » [PCR uniquement]),
- Analyse d'étalonnage (« PCR Only » [PCR uniquement]),
- Analyse d'amplification du Contrôle Positif et du Contrôle Négatif (« PCR Only » [PCR uniquement]).

Tous les paramètres nécessaires pour la session d'analyse sont inclus dans le protocole de test disponible sur l'instrument et sont automatiquement rappelés lorsque le protocole de test est sélectionné.

Remarque : le système **ELITe InGenius** peut être connecté au « serveur de gestion des informations de laboratoire » (LIS) qui permet de charger les informations relatives à la session de travail. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Avant de commencer la session d'analyse, il est absolument indispensable de procéder comme suit :

- Décongeler les tubes à essai du mélange **HIV1 PCR Mix** (capuchon BLANC) nécessaires à la session d'analyse pendant 30 minutes à température ambiante (environ +25 °C), en se rappelant que le contenu de chaque tube à essai est suffisant pour effectuer **24 tests**. Agiter au vortex pendant 10 secondes à trois reprises, centrifuger les tubes pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver les tubes sur de la glace.

Remarque : décongeler le **HIV1 PCR Mix** dans l'obscurité, car ce réactif est sensible à la lumière.

- Sortir les tubes de **RT EnzymeMix** (capuchon avec un insert NOIR) nécessaires pour la session d'analyse, en se rappelant que le contenu de chaque tube est suffisant pour effectuer **48 tests**. Agiter délicatement les tubes, centrifuger pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver les tubes sur de la glace,

Remarque : le mélange **RT EnzymeMix** ne doit pas être exposé à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes.

- Préparer un tube à capuchon vissant de 2 mL (Sarstedt réf. 72.694.005, non inclus dans le kit) pour le **mélange réactionnel complet** et le marquer de manière reconnaissable avec un marqueur permanent,
- Calculer les volumes des deux sous-composants qui sont nécessaires à la préparation du **mélange réactionnel complet** sur la base du nombre d'échantillons à analyser, comme décrit dans le tableau suivant.

Remarque : pour calculer les volumes des deux sous-composants à utiliser pour la préparation du **mélange réactionnel complet**, il est nécessaire de définir le nombre d'échantillons (N) à tester au cours de la session d'analyse et de suivre le tableau ci-dessous.

Nombre d'échantillons (N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL

- Préparer le **mélange réactionnel complet** en ajoutant les volumes calculés des deux composants au tube de 2 mL dédié.
- Agiter **au vortex à basse vitesse** à trois reprises pendant 10 secondes, centrifuger pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver le tube sur de la glace.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** doit être utilisé dans les 7 heures s'il est conservé dans le bloc réfrigéré. Le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être conservé pour être réutilisé.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** est sensible à la lumière ; ne pas l'exposer à la lumière directe.

Les principales étapes du paramétrage des trois types d'analyse sont décrites dans les paragraphes suivants.

A. Analyse intégrée

Pour paramétrer une analyse intégrée avec une extraction et une amplification d'échantillon, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler à température ambiante (environ 25 °C) les tubes à essai contenant les échantillons à analyser, et les manipuler conformément aux directives du laboratoire et au paragraphe « Échantillons et contrôles ».
Se rappeler que 600 µL d'échantillon sont nécessaires pour l'analyse.
2. Décongeler les tubes **HIV1 CPE** pour la session d'analyse à température ambiante (environ +25 °C) pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
3. Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
4. Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 1000 µL (même si 600 µL d'échantillon seront utilisés) et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution extrait) est de 50 µL.
5. Pour chaque « Track » (Position) d'intérêt, renseigner le « SampleID » (SID) (ID échantillon) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
6. Sélectionner le protocole d'analyse à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (par ex. HIV1 ELITe_PL_600_50).
7. Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
8. Sélectionner la position de chargement de l'échantillon « Extraction Tube » (Tube d'extraction) dans la colonne « Sample Position » (Position de l'échantillon). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
Pour l'analyse, 600 µL d'échantillon doivent être transférés dans le « Extraction Tube » (Tube d'extraction). Tout volume en excès sera laissé dans le « Extraction Tube » (Tube d'extraction) par le système **ELITe InGenius**.
9. Charger le **mélange réactionnel complet** et le **HIV1 CPE** sur le « Inventory Block » (Bloc inventaire) sélectionné en suivant les instructions de la GUI et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HIV1 PCR Mix** et du **HIV1 CPE**. Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
11. Charger les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR), les cartouches d'extraction **ELITe InGenius SP 1000**, tous les consommables requis et les échantillons à extraire en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
12. Fermer le tiroir de l'instrument.
13. Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITe InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le « Elution tube » (Tube d'élution) doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 °C pendant un mois. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

Remarque : à la fin de l'analyse, les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR) contenant les produits d'amplification, les cartouches d'extraction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et mis au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits d'amplification.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

B. Analyse d'amplification

Pour paramétrer l'analyse d'amplification à partir d'ARN extrait, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler à température ambiante (environ +25 °C) les tubes à essai contenant les échantillons d'acide nucléique extraits à analyser. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
2. Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
3. Même si aucune extraction ne sera réalisée, vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 1000 µL (même si 600 µL d'échantillon ont été utilisés) et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution extrait) est de 50 µL.
4. Pour chaque « Track » (Position) d'intérêt, renseigner le SID en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
5. Sélectionner le protocole d'analyse à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (par ex. HIV1 ELITe_PL_600_50).
6. Sélectionner « PCR Only » (PCR uniquement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).
7. Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » [Tube d'élution (ligne inférieure)]. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
8. Charger le **mélange réactionnel complet** sur le « Inventory Block » (Bloc inventaire) sélectionné en suivant les instructions de la GUI et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HIV1 PCR Mix**. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR) et les échantillons d'acide nucléique extraits en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11. Fermer le tiroir de l'instrument.
12. Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITe InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le « Elution tube » (Tube d'élution) doit être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C pendant un mois. Éviter tout déversement de l'échantillon extrait.

Remarque : à la fin de l'analyse, les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR) contenant les produits d'amplification et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et mis au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits d'amplification.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

C. Analyse d'étalonnage

Pour paramétrer l'analyse d'étalonnage avec les étalons Q-PCR Standards, effectuer les étapes suivantes en suivant les instructions de la GUI :

1. Décongeler les tubes de **HIV1 Q-PCR Standard** (Cal1 : HIV1 Q-PCR Standards 10², Cal2 : HIV1 Q-PCR Standards 10³, Cal3 : HIV1 Q-PCR Standards 10⁴, Cal4 : HIV1 Q-PCR Standards 10⁵) à température ambiante (environ +25 °C) pendant 30 minutes. Chaque tube permet de préparer 2 réactions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
2. Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
3. Même si aucune extraction ne sera réalisée, vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 1000 µL (même si 600 µL d'échantillon seront utilisés) et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution extrait) est de 50 µL.
4. Dans la Track (Position) d'intérêt, sélectionner le protocole de test « HIV1 ELITe STD » dans la colonne « Assay » (Test) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HIV1 Q-PCR Standard**. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
5. Charger le **mélange réactionnel complet** sur le « Inventory Block » (Bloc inventaire) sélectionné en suivant les instructions de la GUI et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HIV1 PCR Mix**. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
6. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
7. Charger les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR) et les tubes **HIV1 Q-PCR Standard** en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8. Fermer le tiroir de l'instrument.
9. Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITe InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : à la fin de l'analyse, les **HIV1 Q-PCR Standards** restants doivent être retirés de l'instrument, bouchés et conservés à -20 °C.

Remarque : les **HIV1 Q-PCR Standards** peuvent être utilisés pendant 2 sessions de travail indépendantes de 2 heures chacune.

Remarque : à la fin de l'analyse, les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR) contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et mis au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits d'amplification.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

D. Analyse d'amplification du Contrôle Positif et du Contrôle Négatif

Pour paramétrer l'analyse d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler le tube **HIV1 Positive Control** à température ambiante ((environ +25 °C) pendant 30 minutes pour la session d'analyse. Chaque tube permet de préparer 4 réactions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
2. À titre de **contrôle négatif**, transférer au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élution) fourni avec le **ELITe InGenius SP 200 Consumable Set**.
3. Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
4. Même si aucune extraction ne sera réalisée, vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 1000 µL (même si 600 µL d'échantillon seront utilisés) et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution extrait) est de 50 µL.
5. Dans la « Track » (Position) d'intérêt, sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Test).
6. Pour le contrôle positif, sélectionner le protocole de test « HIV1 ELITe_PC » dans la colonne « Assay » (Test) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HIV1 Positive Control**.
7. Pour le contrôle négatif, sélectionner le protocole de test « HIV1 ELITe_NC » dans la colonne « Assay » (Test) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption de l'eau de qualité biologie moléculaire. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
8. Charger le **mélange réactionnel complet** sur le « Inventory Block » (Bloc inventaire) sélectionné en suivant les instructions de la GUI et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HIV1 PCR Mix**. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR), le tube **HIV1 Positive Control** et le tube du **contrôle négatif** en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11. Fermer le tiroir de l'instrument.
12. Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITe InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : à la fin de l'analyse, le **HIV1 Positive Control** restant doit être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C. Le **contrôle négatif** restant doit être mis au rebut.

Remarque : le **HIV1 Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions de travail indépendantes de 3 heures chacune.

Remarque : à la fin de l'analyse, les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR) contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirées de l'instrument et mises au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits d'amplification.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

Examen et approbation des résultats

À la fin de l'analyse, l'écran « Results Display » (Affichage des résultats) s'affiche automatiquement. Dans cet écran, les résultats de l'échantillon/de l'étalon/des contrôles et les informations concernant l'analyse sont affichés. À partir de cet écran, il est possible d'approuver le résultat, d'imprimer ou d'enregistrer les rapports (« Sample Report » [Rapport échantillons] ou « Track Report » [Rapport des positions]). Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Remarque : le système **ELITe InGenius** peut être connecté au « Serveur de gestion des informations de laboratoire » (LIS) par lequel il est possible d'envoyer les résultats de la session de travail au centre de données du laboratoire. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Le système **ELITe InGenius** génère les résultats à l'aide du produit **HIV1 ELITe MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

- Validation de la courbe d'étalonnage,
- Validation des résultats du Contrôle Positif et du Contrôle Négatif,
- Validation des résultats de l'échantillon,
- Rapport des résultats de l'échantillon.

A. Validation de la courbe d'étalonnage

Les signaux de fluorescence émis par la sonde pour le VIH1 (Canal « HIV1 ») dans les réactions d'amplification des calibrateurs sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans le protocole de test « **HIV1 ELITe STD** ».

La courbe d'étalonnage, spécifique au lot de réactifs d'amplification, est enregistrée dans la base de données [Calibration (Étalonnage)]. Elle peut être visualisée et approuvée par du personnel qualifié disposant des privilèges « Administrator » (Administrateur) ou « Analyst » (Analyste), en suivant les instructions de la GUI.

La courbe d'étalonnage, spécifique au lot de réactifs d'amplification, expire **au bout de 60 jours**.

Remarque : si la courbe d'étalonnage ne satisfait pas les critères d'acceptation, le message « Failed » (Échec) s'affiche dans l'écran « Calibration » (Étalonnage) et elle ne peut pas être approuvée. Les réactions d'amplification des calibrateurs doivent être répétées.

Remarque : si la courbe d'étalonnage est analysée avec des échantillons et que son résultat est non valide, l'intégralité de la session d'analyse est non valide. Dans ce cas, l'amplification de tous les échantillons doit être également répétée.

B. Validation des résultats du Contrôle Positif et du Contrôle Négatif d'amplification

Les signaux de fluorescence émis par la sonde pour le VIH1 (Canal « HIV1 ») dans la réaction d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans les protocoles de test « **HIV1 ELITe PC** » et « **HIV1 ELITe NC** ».

Les résultats de l'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif, spécifiques au lot de réactifs d'amplification utilisé, sont enregistrés dans la base de données (Controls [Contrôles]). Ils peuvent être visualisés et approuvés par du personnel qualifié disposant des privilèges « Administrator » (Administrateur) ou « Analyst » (Analyste), en suivant les instructions de la GUI.

Les résultats de l'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif, spécifiques au lot de réactif d'amplification, expirent **au bout de 15 jours**.

Les résultats des analyses de l'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif sont utilisés par le logiciel de l'instrument pour paramétrer les « Control Charts » (Graphiques de contrôle). Quatre résultats de contrôle positif et de contrôle négatif, provenant de quatre analyses différentes, sont nécessaires pour configurer le « Control Chart » (Graphique de contrôle). Ensuite, les résultats du contrôle positif et du contrôle négatif sont utilisés pour surveiller les performances de l'étape d'amplification. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Remarque : si les résultats du contrôle positif ou du contrôle négatif d'amplification ne satisfont pas les critères d'acceptation, le message « Failed » (Échec) s'affiche dans l'écran « Controls » (Contrôles), et il ne peuvent pas être approuvés. Dans ce cas, la réaction du contrôle positif ou du contrôle négatif d'amplification doit être répétée.

Remarque : si le contrôle positif ou le contrôle négatif est analysé avec des échantillons à tester et que son résultat est non valide, les échantillons peuvent être approuvés mais les résultats ne sont pas validés. Dans ce cas, l'amplification de tous les échantillons doit être également répétée.

C. Validation des résultats de l'échantillon

Les signaux de fluorescence émis par la sonde pour le VIH1 (Canal « HIV1 ») et par la sonde du contrôle interne (Canal « IC ») dans les réactions d'amplification de l'échantillon sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans le protocole de test « **HIV1 ELITe_PL_600_50** ».

Les résultats sont présentés dans les rapports générés par l'instrument [« Results Display » (Affichage des résultats)].

L'analyse de l'échantillon peut être approuvée lorsque les trois conditions indiquées dans le tableau ci-dessous sont satisfaites.

1) Courbe d'étalonnage	Statut
HIV1 Q-PCR Standards	APPROUVÉ
2) Contrôle Positif	Statut
HIV1 Positive Control	APPROUVÉ
3) Contrôle Négatif	Statut
HIV1 Negative Control	APPROUVÉ

Pour chaque échantillon, le résultat de l'analyse est automatiquement interprété par le système tel qu'établi par l'algorithme du **logiciel ELITe InGenius** et les paramètres du protocole de test.

Les messages de résultat possibles sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
HIV1: RNA Detected, quantity equal to "XXX" copies / mL or IU / mL (VIH1 : ARN détecté, quantité égale à « XXX » copies/mL ou UI/mL).	L'ARN du VIH1 a été détecté dans l'échantillon dans la plage de mesure du test ; la quantité est celle affichée.
HIV1: RNA Detected, quantity below "LLoQ" copies / mL or IU / mL (VIH1 : ARN détecté, quantité inférieure au nombre de copies/mL ou UI/mL de la « LLoQ »).	L'ARN du VIH1 a été détecté dans l'échantillon en une quantité inférieure à la limite inférieure de quantification (LLoQ) du test.
HIV1: RNA Detected, quantity beyond "ULoQ" copies / mL or IU / mL (VIH1 : ARN détecté, quantité supérieure au nombre de copies/mL ou UI/mL de la « ULoQ »).	L'ARN du VIH1 a été détecté dans l'échantillon en une quantité supérieure à la limite supérieure de quantification (ULoQ) du test.
HIV1: RNA Not Detected or below the "LoD" copies / mL or IU / mL (VIH1 : ARN non détecté ou inférieur au nombre de copies/mL ou UI/mL de la « LoD »).	L'ARN du VIH1 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARN du VIH1 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection (LoD) du test.
Non valide - Tester à nouveau l'échantillon.	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du contrôle interne (extraction incorrecte, contamination par des inhibiteurs). Le test doit être répété.

HIV1 ELITe MGB® Kit

réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

Les échantillons rapportés comme « Non valide - Tester à nouveau l'échantillon » (Invalid - Retest Sample) par le logiciel **ELITe InGenius** ne sont pas appropriés pour l'interprétation des résultats. Dans ce cas, l'ARN du contrôle interne n'a pas été efficacement détecté en raison de problèmes lors de l'étape de transcription inverse, d'amplification ou d'extraction (dégradation ou perte d'ARN pendant l'extraction ou contamination par des inhibiteurs dans l'éluat), ce qui peut générer des résultats incorrects.

Lorsque le volume d'éluat est suffisant, l'échantillon extrait peut être à nouveau testé, pur ou dilué, par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR uniquement). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'une nouvelle aliquote à l'aide du mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les échantillons rapportés comme « HIV1 RNA Not Detected or below LoD » (ARN du VIH1 non détecté ou inférieur à la LoD) sont appropriés pour l'analyse, mais il n'a pas été possible de détecter d'ARN du VIH1. Dans ce cas, il n'est pas possible d'exclure le fait que de l'ARN du VIH1 soit présent à une concentration inférieure à la limite de détection du test (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

Les échantillons positifs pour l'ARN du VIH1 à une concentration inférieure à la LoD, lorsqu'ils sont détectés par le test, sont rapportés comme « HIV1: RNA Detected, quantity below LLoQ » (VIH1 : ARN détecté, quantité inférieure à la LLoQ) (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

Remarque : les résultats obtenus avec ce test doivent être interprétés en tenant compte de l'ensemble des données cliniques et des autres résultats d'analyse de laboratoire du patient.

Les résultats de l'analyse des échantillons sont stockés dans la base de données et, s'ils sont valides, peuvent être approuvés [Result Display (Affichage des résultats)] par du personnel qualifié disposant des privilèges « Administrator » (Administrateur) ou « Analyst » (Analyste) en suivant les instructions de la GUI. Dans la fenêtre « Result Display » (Affichage des résultats), il est possible d'imprimer et d'enregistrer les résultats de l'analyse de l'échantillon sous forme de « Sample Report » (Rapport échantillons) et « Track Report » (Rapport des positions).

D. Rapport des résultats de l'échantillon

Les résultats de l'échantillon sont stockés dans la base de données et peuvent être visualisés ou exportés sous forme de « Sample Report » (Rapport échantillons) et « Track Report » (Rapport des positions).

Le « Sample Report » (Rapport échantillons) présente les détails d'une session de travail triés par échantillon sélectionné (SID).

Le « Track Report » (Rapport des positions) présente les détails d'une session de travail par position sélectionnée.

Les « Sample Report » (Rapport échantillons) et « Track Report » (Rapport des positions) peuvent être imprimés et signés par le personnel agréé.

HIV1 ELITe MGB® Kit

réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

ELITe BeGenius

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

Ce produit doit être utilisé avec les échantillons cliniques suivants :

Plasma prélevé sur EDTA ou ACD

Les échantillons de plasma pour l'extraction des acides nucléiques doivent être prélevés sur EDTA ou ACD et identifiés conformément aux directives du laboratoire, et doivent être transportés et conservés à température ambiante (+18/environ +25 °C) pendant trois jours au maximum ou entre +2 et +8 °C pendant cinq jours au maximum. Sinon, ils doivent être congelés et conservés à environ -20 °C pendant un mois au maximum ou à environ -70 °C pendant 6 mois.

Il est recommandé de diviser les échantillons en aliquotes avant la congélation afin d'éviter des cycles répétés de congélation et de décongélation. En cas d'utilisation d'échantillons congelés, les décongeler juste avant l'extraction afin d'éviter une éventuelle dégradation des acides nucléiques.

Remarque : l'extraction d'ARN à partir de plasma prélevé sur EDTA ou ACD est effectuée à l'aide du système **ELITe BeGenius** et du logiciel **ELITe BeGenius** version 2.1.0 (ou versions ultérieures équivalentes) en utilisant le protocole de test **HIV1 ELITe Be_PL_600_50**. Ce protocole comprend le traitement de 600 µL d'échantillon, l'ajout du **HIV1 CPE** (contrôle interne) à 10 µL par extraction et l'éluat des acides nucléiques dans 50 µL.

Les acides nucléiques purifiés peuvent être conservés à environ -20 °C pendant un mois.

Autres échantillons

Il n'existe actuellement aucune donnée disponible en ce qui concerne les performances du produit avec d'autres échantillons cliniques tels que sang total, sérum, ou LCR.

Substances interférentes

Les données disponibles concernant l'inhibition provoquée par les médicaments et d'autres substances sont fournies au paragraphe « Substances potentiellement interférentes » de la section « Caractéristiques de performance ».

Ne pas utiliser de plasma prélevé sur héparine afin de prévenir l'inhibition de la réaction d'amplification et de fréquents résultats non valides.

Contrôles d'amplification

Avant d'analyser un échantillon, il est indispensable de générer et d'approuver la courbe d'étalonnage et les contrôles d'amplification pour chaque lot de réactifs d'amplification :

- à titre de jeu de calibrateurs, utiliser les quatre niveaux de concentration du produit **HIV1 ELITe Standard** inclus dans ce kit, en association avec le protocole de test **HIV1 ELITe Be_STD**,
- à titre de contrôle positif d'amplification, utiliser le produit **HIV1 - ELITe Positive Control** inclus dans ce kit, en association avec le protocole de test **HIV1 ELITe Be_PC**,
- à titre de contrôle négatif d'amplification, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) en association avec le protocole de test **HIV1 ELITe Be_NC**.

Remarque : le système **ELITe BeGenius** exige que les résultats de la courbe d'étalonnage et des contrôles d'amplification soient approuvés et valides pour chaque lot de réactifs d'amplification stocké dans sa base de données.

Les courbes d'étalonnage, approuvées et stockées dans la base de données, expirent au bout de **60 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser les étalons Q-PCR Standards en association avec le lot de réactifs d'amplification.

Les résultats des contrôles d'amplification, approuvés et stockés dans la base de données, expirent au bout de **15 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser les contrôles positif et négatif en association avec le lot du réactif d'amplification.

HIV1 ELITe MGB® Kit réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

En outre, les calibrateurs et les contrôles d'amplification doivent être réanalysés lorsque :

- un nouveau lot de réactifs est utilisé,
- les résultats de l'analyse du contrôle de qualité (se reporter au paragraphe suivant) sont en dehors des spécifications,
- l'instrument **ELITe BeGenius** subit une procédure de maintenance majeure.

Contrôles de qualité

Il est recommandé de planifier la validation de la procédure d'extraction et d'amplification. À cette fin, il est possible d'utiliser les échantillons testés ou un matériel de référence certifié. Les contrôles externes doivent être utilisés conformément aux exigences des organismes d'accréditation locaux, régionaux et nationaux en vigueur.

PROCÉDURE

La procédure d'utilisation du **HIV1 ELITe MGB Kit** avec le système **ELITe BeGenius** comporte trois étapes :

- Vérification de la préparation du système,
- Paramétrage de la session d'analyse,
- Examen et exportation des résultats.

Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse, en se référant à la documentation de l'instrument, il est nécessaire de :

- mettre le système **ELITe BeGenius** en marche et sélectionner le mode de connexion « **CLOSED** » (FERMÉ) ;
- vérifier que les calibrateurs (**HIV1 Q-PCR Standard**) ont été analysés, sont approuvés et ne présentent pas le statut (Status) Expiré en association avec le lot de réactifs d'amplification à utiliser. En l'absence de calibrateurs approuvés ou valides, il convient de les analyser comme décrit aux paragraphes suivants ;
- vérifier que les contrôles d'amplification (**HIV1 Positive Control**, **HIV1 Negative Control**) ont été analysés, sont approuvés et ne présentent pas le statut (Status) Expiré en association avec le lot de réactifs d'amplification à utiliser. En l'absence de contrôles d'amplification approuvés ou valides, il convient de les analyser comme décrit aux paragraphes suivants,
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique utilisateur (GUI) concernant le paramétrage de la session d'analyse et en utilisant les protocoles de test fournis par ELITechGroup S.p.A. Ces protocoles de DIV ont été spécifiquement validés avec les kits ELITe MGB et l'instrument ELITe BeGenius et la matrice indiquée.
- Les protocoles de test disponibles pour tester des échantillons à l'aide du produit **HIV1 ELITe MGB Kit** sont décrits dans le tableau ci-dessous :

Protocole de test pour le HIV1 ELITe MGB Kit avec le système ELITe BeGenius			
Nom	Matrice	Rapport	Caractéristiques
HIV1 ELITe_Be_PL_600_50	Plasma	Positif/UI/mL/ copies/mL/ Négatif	Volume d'extraction initial : 600 µL Volume d'élution extrait : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Facteur de dilution : 1,7 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de l'échantillon PCR : 20 µL

- Si le protocole de test d'intérêt n'est pas chargé dans le système, contacter le service clientèle ELITechGroup local.

HIV1 ELITe MGB® Kit réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

Paramétrage de la session d'analyse

- Le produit **HIV1 ELITe MGB Kit** peut être utilisé avec le système **ELITe BeGenius** pour les opérations suivantes :
A. Analyse intégrée (« Extract + PCR » [Extraction + PCR]),
B. Analyse d'amplification (« PCR Only » [PCR uniquement]),
C. Analyse d'étalonnage (« PCR Only » [PCR uniquement]),
D. Analyse d'amplification du Contrôle Positif et du Contrôle Négatif (« PCR Only » [PCR uniquement]).

Tous les paramètres nécessaires pour la session d'analyse sont inclus dans le protocole de test disponible sur l'instrument et sont automatiquement rappelés lorsque le protocole de test est sélectionné.

Remarque : le système **ELITe BeGenius** peut être connecté au « serveur d'informations de localisation » (LIS) par lequel il est possible d'envoyer les informations relatives à la session de travail. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Avant de commencer la session d'analyse, il est absolument indispensable de procéder comme suit :

1. Décongeler les tubes à essai du mélange **HIV1 PCR Mix** (capuchon BLANC) nécessaires à la session d'analyse pendant 30 minutes à température ambiante (environ +25 °C), en se rappelant que le contenu de chaque tube à essai est suffisant pour effectuer **24 tests**. Agiter au vortex pendant 10 secondes à trois reprises, centrifuger les tubes pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver les tubes sur de la glace.

Remarque : décongeler le **HIV1 PCR Mix** dans l'obscurité, car ce réactif est sensible à la lumière.

2. Sortir les tubes de **RT EnzymeMix** (capuchon avec un insert NOIR) nécessaires pour la session d'analyse, en se rappelant que le contenu de chaque tube est suffisant pour effectuer **48 tests**. Agiter délicatement les tubes, centrifuger pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver les tubes sur de la glace,

Remarque : le mélange **RT EnzymeMix** ne doit pas être exposé à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes.

3. Préparer un tube à capuchon vissant de 2 mL (Sarstedt réf. 72.694.005, non inclus dans le kit) pour le **mélange réactionnel complet** et le marquer de manière reconnaissable avec un marqueur permanent,
4. Calculer les volumes des deux sous-composants qui sont nécessaires à la préparation du **mélange réactionnel complet** sur la base du nombre d'échantillons à analyser, comme décrit dans le tableau suivant.

Remarque : pour calculer les volumes des deux sous-composants à utiliser pour la préparation du **mélange réactionnel complet**, il est nécessaire de définir le nombre d'échantillons (N) à tester au cours de la session d'analyse et de suivre le tableau ci-dessous.

Nombre d'échantillons (N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL

5. Préparer le **mélange réactionnel complet** en ajoutant les volumes calculés des deux composants au tube de 2 mL dédié.
6. Agiter **au vortex à basse vitesse** à trois reprises pendant 10 secondes, centrifuger pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver le tube sur de la glace.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** doit être utilisé dans les **7 heures** s'il est conservé dans le bloc réfrigéré. Le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être conservé pour être réutilisé.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** est sensible à la lumière ; ne pas l'exposer à la lumière directe.

Les principales étapes du paramétrage des trois types d'analyse sont décrites dans les paragraphes suivants.

A. Analyse intégrée

Pour paramétrer une analyse intégrée avec une extraction et une amplification d'échantillon, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler à température ambiante (+18/25 °C) les tubes à essai contenant les échantillons à analyser, et les manipuler conformément aux directives du laboratoire et au paragraphe « Échantillons et contrôles » ;
Se rappeler que 600 µL d'échantillon sont nécessaires pour l'analyse.
2. Décongeler les tubes de **HIV1 CPE** à température ambiante (environ +25 °C) pendant 30 minutes pour la session d'analyse. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
3. Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
4. Retirer les portoirs de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement) et les placer sur la table de préparation.
5. Sélectionner le « run mode » (mode d'analyse) : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
6. Charger les échantillons dans les portoirs 5 et 4 (toujours commencer par le portoir 5).
7. Insérer le portoir dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.

Remarque : si des tubes secondaires sont chargés, les marquer « Tube de 2 mL ». Si les tubes secondaires ne portent pas de codes-barres, saisir manuellement l'ID de l'échantillon.

8. Vérifier le Extraction Input Volume (Volume d'extraction initial) (600 µL) et le Extracted Elute Volume (Volume d'élution extrait) (50 µL).
9. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (c'est-à-dire HIV1 ELITe_Be_PL_600_50). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
10. S'il est utilisé, répéter les étapes 7 à 9 pour le portoir 4.
11. Charger les tubes d'élution dans les portoirs 3 et 2 (toujours commencer par le portoir 3).

Remarque : les tubes d'élution peuvent être étiquetés pour faciliter la traçabilité.

12. Insérer le portoir dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
13. S'il est utilisé, répéter les étapes 11 et 12 pour le portoir 2.
14. Charger le **CPE** et le **mélange réactionnel complet** dans le portoir 1.
15. Insérer le portoir 1 dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
16. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
17. Charger le panier avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
18. Charger le panier avec les cartouches d'extraction « ELITe InGenius SP 1000 » et les consommables d'extraction requis en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
19. Fermer le tiroir de l'instrument.
20. Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITe BeGenius** permet à l'utilisateur de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant peut être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 °C. Éviter tout déversement de l'échantillon extrait.

Remarque : à la fin de l'analyse, la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et éliminés en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement) de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

B. Analyse d'amplification

Pour paramétrer l'analyse d'amplification à partir d'ARN extrait, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler à température ambiante (environ +25 °C) les tubes à essai contenant les échantillons d'acide nucléique extraits à analyser. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
2. Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
3. Retirer les portoirs 1, 2 et 3 de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement) et les placer sur la table de préparation.
4. Sélectionner le « run mode » (mode d'analyse) : « PCR Only » (PCR uniquement).
5. Charger les échantillons dans les portoirs 3 et 2 (toujours commencer par le portoir 3).
6. Insérer le portoir dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
7. Même si aucune extraction n'est réalisée, vérifier le Extraction Input Volume (Volume d'extraction initial) (600 µL) et le Extracted Elute Volume (Volume d'élution extrait) (50 µL).
8. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (par ex. HIV1 ELITe_Be_PL_600_50). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
9. S'il est utilisé, répéter les étapes 5 à 8 pour le portoir 2.
10. Charger le **mélange réactionnel complet** dans le portoir 1.
11. Insérer le portoir 1 dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
12. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
13. Charger le panier avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
14. Fermer le tiroir de l'instrument.
15. Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITe BeGenius** permet à l'utilisateur de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant peut être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 °C. Éviter tout déversement de l'échantillon extrait.

HIV1 ELITe MGB® Kit

réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

Remarque : à la fin de l'analyse, la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) contenant les produits de réaction doit être retirée de l'instrument et éliminée en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement) de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

C. Analyse d'étalonnage

Pour paramétrer l'analyse d'étalonnage avec les étalons Q-PCR Standards, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler les tubes de **HIV1 Q-PCR Standard** (Cal1 : HIV1 Q-PCR Standards 10², Cal2 : HIV1 Q-PCR Standards 10³, Cal3 : HIV1 Q-PCR Standards 10⁴, Cal4 : HIV1 Q-PCR Standards 10⁵) à température ambiante (environ +25 °C) pendant 30 minutes. Chaque tube permet de préparer 2 réactions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
2. Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
3. Retirer les portoirs 1, 2 et 3 de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement) et les placer sur la table de préparation.
4. Sélectionner le « run mode » (mode d'analyse) : « PCR Only » (PCR uniquement).
5. Charger les tubes de calibrateur dans le portoir 3.
6. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (HIV1 ELITe_Be_STD). Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
7. Charger le **mélange réactionnel complet** dans le portoir 2.
8. Insérer le portoir 2 dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger le panier avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
11. Fermer le tiroir de l'instrument.
12. Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITe BeGenius** permet à l'utilisateur de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : à la fin de l'analyse, les calibrateurs restants peuvent être retirés de l'instrument, bouchés et conservés à -20 °C. Éviter tout déversement des étalons Q-PCR Standards.

Remarque : les **HIV1 Q-PCR Standards** peuvent être utilisés pendant 2 sessions de travail indépendantes de 2 heures chacune.

Remarque : à la fin de l'analyse, la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) contenant les produits de réaction doit être retirée de l'instrument et mise au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

HIV1 ELITe MGB® Kit

réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

D. Analyse du contrôle positif et du contrôle négatif

Pour paramétrer l'analyse d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler les tubes de **HIV1 Positive Control** à température ambiante (environ +25 °C) pendant 30 minutes pour la session. Chaque tube permet de préparer 4 réactions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
2. Transférer au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire (à titre de contrôle négatif) pour les sessions d'analyse dans un (1) « Elution tube » (Tube d'élution) fourni dans le kit de consommables ELITe InGenius SP Consumable Set.
3. Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
4. Retirer les portoirs 1, 2 et 3 de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement) et les placer sur la table de préparation.
5. Sélectionner le « run mode » (mode d'analyse) : « PCR Only » (PCR uniquement).
6. Charger les tubes de contrôle positif et de contrôle négatif dans le portoir 3.
7. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (HIV1 ELITe_Be_PC et HIV1 ELITe_Be_NC). Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
8. Charger le **mélange réactionnel complet** dans le portoir 2.
9. Insérer le portoir 2 dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
11. Charger le panier avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
12. Fermer le tiroir de l'instrument.
13. Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITe BeGenius** permet à l'utilisateur de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : à la fin de l'analyse, le contrôle positif restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C. Éviter tout déversement des contrôles positifs. Le contrôle négatif restant doit être mis au rebut.

Remarque : le **HIV1 Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions de travail indépendantes de 3 heures chacune.

Remarque : à la fin de l'analyse, les « PCR Cassettes » (Cassettes de PCR) contenant les produits de réaction doivent être retirées de l'instrument et mises au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

Examen et approbation des résultats

À la fin de l'analyse, l'écran « Results Display » (Affichage des résultats) s'affiche automatiquement. Dans cet écran, les résultats de l'échantillon/du calibrateur/des contrôles et les informations concernant l'analyse sont affichés. À partir de cet écran, il est possible d'approuver le résultat, d'imprimer ou d'enregistrer les rapports (« Sample Report » [Rapport échantillons] ou « Track Report » [Rapport des positions]). Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Le système **ELITe BeGenius** génère les résultats à l'aide du produit HIV1 ELITe MGB Kit en exécutant la procédure suivante :

- Validation de la courbe d'étalonnage,
- Validation des résultats du contrôle positif et du contrôle négatif d'amplification,
- Validation des résultats de l'échantillon,
- Rapport des résultats de l'échantillon.

Remarque : pour connaître les détails pour ce système, se reporter aux sections correspondantes relatives au système **ELITe InGenius**.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE DES SYSTÈMES ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du HIV1 ELITe MGB Kit a été définie en association avec des échantillons de plasma et le système **ELITe InGenius**.

La LoD a été définie en testant un panel d'échantillons de plasma prélevé sur ACD négatifs pour le VIH1 qui ont été dopés avec un matériel de référence certifié du VIH1 (4^e étalon international de l'OMS, NIBSC) dont le titre était connu. Six niveaux de dilutions ont été préparés, de 100 UI/mL à 6 UI/mL. Chaque niveau de dilution a été traité en 24 réplicats sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR). La LoD a été estimée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 % par une analyse de régression des probits des données.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Limite de détection (UI/mL) pour des échantillons de plasma prélevé sur ACD avec le système ELITe InGenius			
Cible	LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
HIV1	60	40	122

La LoD, exprimée en copies/mL pour le plasma prélevé sur ACD, a été calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique (2,3 UI/copie). La sensibilité analytique, en copies/mL, est indiquée ci-dessous.

Limite de détection (copies/mL) pour des échantillons de plasma prélevé sur ACD avec le système ELITe InGenius			
Cible	LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
HIV1	26	17	53

La valeur de la LoD calculée a été vérifiée en testant 30 réplicats d'échantillons de plasma prélevé sur ACD et 30 réplicats d'échantillons de plasma prélevé sur EDTA dopés avec un matériel de référence certifié du VIH1 (4^e étalon international de l'OMS, NIBSC) à la concentration revendiquée. La LoD était confirmée si au moins 27 des 30 réplicats généraient un résultat positif conformément à la norme EP17-A du CLSI.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Vérification de la limite de détection pour le plasma avec le système ELITe InGenius					
Échantillon	Titre	Cible	N	Positif	Négatif
Plasma prélevé sur ACD	60 UI/mL	HIV1	30	29	1
Plasma prélevé sur EDTA	60 UI/mL	HIV1	30	28	2

La valeur de la LoD pour la cible VIH1 a été confirmée à 60 UI/mL pour le plasma prélevé sur ACD et le plasma prélevé sur EDTA.

La valeur de la LoD calculée a été vérifiée en association avec le système **ELITe BeGenius** en testant 30 réplicats d'échantillons de plasma prélevé sur ACD et 30 réplicats d'échantillons de plasma prélevé sur EDTA dopés avec un matériel de référence certifié du VIH1 (4^e étalon international de l'OMS, NIBSC) à la concentration revendiquée. La LoD était confirmée si au moins 27 des 30 réplicats généraient un résultat positif conformément à la norme EP17-A du CLSI.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Vérification de la limite de détection pour le plasma avec le système ELITe BeGenius					
Échantillon	Titre	Cible	N	Positif	Négatif
Plasma prélevé sur ACD	60 UI/mL	HIV1	30	30	0
Plasma prélevé sur EDTA	60 UI/mL	HIV1	30	27	3

La valeur de la LoD pour la cible VIH1 a été confirmée sur l'instrument **ELITe BeGenius** à 60 UI/mL pour le plasma prélevé sur ACD et le plasma prélevé sur EDTA.

Équivalence des matrices : plasma EDTA versus plasma ACD

L'équivalence des performances du HIV1 ELITe MGB Kit a été vérifiée en utilisant des échantillons de plasma prélevé sur ACD et des échantillons de plasma prélevé sur EDTA en association avec le système **ELITe InGenius**.

Un test a été effectué sur 30 échantillons de plasma prélevé sur EDTA et 30 échantillons de plasma prélevé sur ACD provenant des mêmes 30 donneurs différents (échantillons appariés), testés négatifs pour le VIH1 par un dosage immunologique portant le marquage CE DIV. Les échantillons ont été testés sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR). Le pourcentage de concordance négative a été évalué. Le pourcentage du coefficient de variation (% CV) des valeurs Ct du contrôle interne a été calculé afin d'évaluer l'équivalence des deux matrices.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Échantillon	N	Positif	Négatif	% de concordance négative	% CV Ct du Contrôle Interne	% CV Ct globale du Contrôle Interne
Plasma prélevé sur EDTA	30	1	29	96,7 %	1,80	1,81
Plasma prélevé sur ACD	30	0	30		1,81	

L'échantillon de plasma dont le résultat était positif montrait un très faible titre (inférieur à 60 UI/mL), ce qui est compatible avec une absence d'identification par le dosage immunologique portant le marquage CE DIV utilisé pour certifier la négativité de l'échantillon.

Un test a été effectué sur 30 échantillons de plasma prélevé sur EDTA et échantillons de plasma prélevé sur ACD appariés, testés négatifs pour le VIH1 par un dosage immunologique portant le marquage CE DIV et dopés avec un matériel de référence certifié (4^e étalon international pour le VIH1 de l'OMS, NIBSC) à une concentration de 3 x la LoD (environ 180 UI/mL). Les échantillons ont été testés sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR). Le pourcentage de concordance positive a été évalué. Le pourcentage du coefficient de variation (% CV) des valeurs Ct de la cible VIH1 a été calculé afin d'évaluer l'équivalence des deux matrices.

HIV1 ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Échantillon	N	Positif	Négatif	% de concordance positive	% CV Ct du VIH1	% CV Ct globale du VIH1	Biais (Log UI/mL)
Plasma prélevé sur EDTA	30	30	0	100 %	1,81	1,53	0,0744
Plasma prélevé sur ACD	30	30	0		1,18		

Dans ces tests, les 30 échantillons de plasma prélevé sur EDTA et échantillons de plasma prélevé sur ACD appariés montraient des performances équivalentes lorsqu'ils étaient analysés à l'aide du HIV1 ELITe MGB Kit en association avec le système ELITe InGenius.

Des tests supplémentaires sur l'équivalence des matrices ont été effectués pendant l'étude de la plage de mesure linéaire.

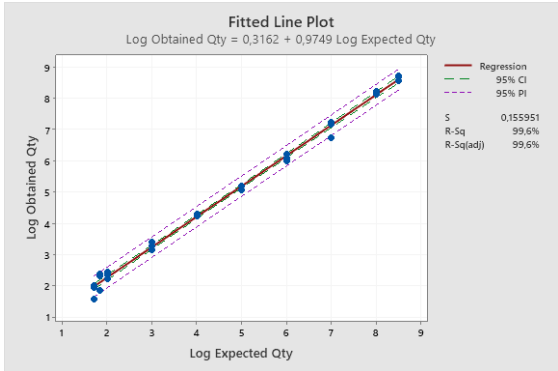
Plage de mesure linéaire

La plage de mesure linéaire du HIV1 ELITe MGB Kit a été déterminée en association avec des échantillons de plasma et les systèmes ELITe InGenius et ELITe BeGenius.

La plage de mesure linéaire a été déterminée en utilisant un panel de dilutions d'un matériel de référence du VIH1, groupe M et sous-type B (ZeptoMetrix), dans des échantillons de plasma prélevé sur EDTA négatifs pour le VIH1 et les systèmes **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius**. Le panel consistait en dix points de dilution à partir d'environ $3,2 \times 10^8$ UI/mL jusqu'à 50 UI/mL. Chaque échantillon du panel a été testé en 3 réplicats sur les systèmes ELITe InGenius et ELITe BeGenius en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

L'analyse des données obtenues, utilisant une régression polynomiale et une régression linéaire, a démontré que le test présentait une réponse linéaire pour toutes les dilutions avec un coefficient de corrélation R-carré (R²) de 0,996 pour le système **ELITe InGenius**.

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



La limite inférieure de quantification (LLOQ) a été définie à la concentration de la LoD qui génère des résultats quantitatifs précis (écart-type = 0,3049 Log UI/mL) et exacts (biais = 0,0759 Log UI/mL) à $\pm 0,5$ Log UI/mL : 60 UI/mL.

La limite supérieure de quantification (ULOQ) a été définie à la concentration la plus élevée qui génère des résultats quantitatifs précis (écart-type = 0,0816 Log UI/mL) et exacts (biais = 0,1459 Log UI/mL) à $\pm 0,5$ Log UI/mL : 319 290 322 UI/mL.

La plage de mesure linéaire, exprimée en copie/mL pour le plasma EDTA, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique (2,3 UI/copie).

HIV1 ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

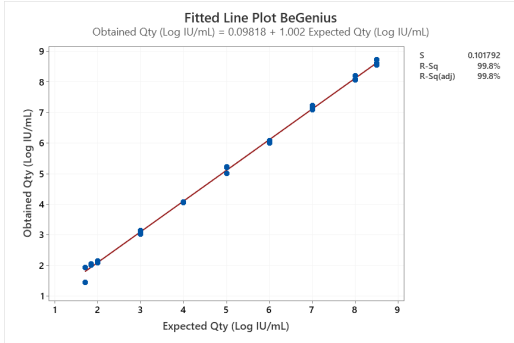
Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Plage de mesure linéaire pour les échantillons de plasma EDTA avec le système ELITe InGenius	
Limite inférieure	Limite supérieure
60 UI/mL	319 290 322 UI/mL
26 copies/mL	138 821 879 copies/mL

La plage de mesure linéaire du HIV1 ELITe MGB® Kit a été vérifiée en association avec des échantillons de plasma et le système **ELITe BeGenius** en utilisant un panel de dilutions d'un matériel de référence du VIH1, groupe M et sous-type B (ZeptoMetrix) dans des échantillons de plasma prélevé sur ACD négatifs pour le VIH1. Le panel consistait en dix points de dilution à partir d'environ $3,2 \times 10^8$ UI/mL jusqu'à 50 UI/mL. Chaque échantillon du panel a été testé en 3 réplicats sur le système ELITe BeGenius® en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

L'analyse des données obtenues, utilisant une régression polynomiale et une régression linéaire, a démontré que le test présentait une réponse linéaire pour toutes les dilutions avec un coefficient de corrélation R-carré (R²) de 0,998 pour le système **ELITe BeGenius**.

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



La limite inférieure de quantification (LLOQ) a été définie à la concentration de la LoD qui génère des résultats quantitatifs précis (écart-type = 0,3353 Log UI/mL) et exacts (biais = 0,3004 Log UI/mL) à $\pm 0,5$ Log UI/mL : 60 UI/mL.

La limite supérieure de quantification (ULOQ) a été définie à la concentration la plus élevée qui génère des résultats quantitatifs précis (écart-type = 0,0891 Log UI/mL) et exacts (biais = 0,1258 Log UI/mL) à $\pm 0,5$ Log UI/mL : 319 290 322 UI/mL.

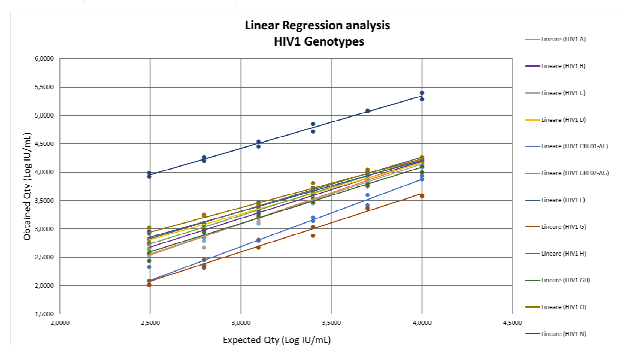
La plage de mesure linéaire, exprimée en copie/mL pour le plasma EDTA, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique (2,3 UI/copie).

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Plage de mesure linéaire pour les échantillons de plasma EDTA avec le système ELITe BeGenius	
Limite inférieure	Limite supérieure
60 UI/mL	319 290 322 UI/mL
26 copies/mL	138 821 879 copies/mL

La linéarité de la quantification a été vérifiée par une analyse d'échantillons de plasma négatif prélevé sur EDTA dopés avec un matériel de référence du VIH1 (HIV-1 Subtype Panel, Institute of Virology, Erlangen University Hospital) pour les principaux génotypes du VIH1 (Groupe M sous-types A, C, D, CRF01-AE, F, G, GH, H, CRF02-AG, Groupe O et Groupe N). Chaque génotype du VIH1 a été testé dans un panel de 6 niveaux de dilution. Chaque niveau de dilution a été testé en 2 réplicats sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

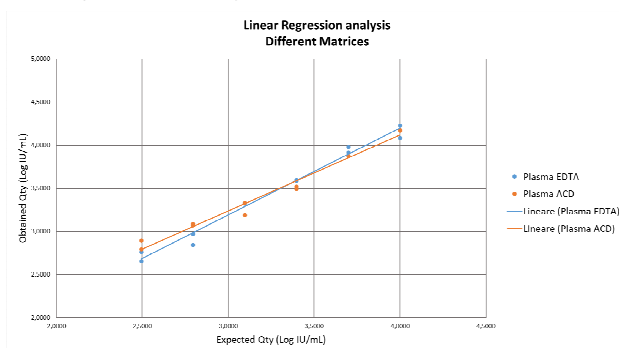
Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



La linéarité de la quantification du test a été confirmée pour les principaux génotypes du VIH1 (Groupe M sous-types A, C, D, CRF01-AE, F, G, GH, H, CRF02-AG, Groupe O et Groupe N) : la valeur R2 était comprise entre 0,972 et 0,999 et les résultats quantitatifs compris à $\pm 0,5$ Log UI/mL, à l'exception du VIH1 groupe N qui était sous-estimé d'environ 1,5 Log UI/mL par comparaison à la valeur théorique. En revanche, cet échantillon a également été surestimé par le test « cobas® HIV-1 for use on the 6800 Systems » (Roche Diagnostics).

La linéarité de la quantification a été vérifiée par une analyse d'échantillons de plasma négatif prélevé sur EDTA et d'échantillons de plasma négatif prélevé sur ACD dopés avec un matériel de référence pour le VIH1 groupe M, sous-type B (Zeptomatrix). Chaque matrice a été testée dans un panel de 6 niveaux de dilution. Chaque niveau de dilution a été testé en 2 réplicats sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR). Les résultats correspondants du test avec des échantillons de plasma prélevé sur EDTA ont été rapportés à titre de référence.

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



La linéarité du test a été confirmée pour les échantillons de plasma prélevé sur EDTA et de plasma prélevé sur ACD en générant des résultats quantitatifs à $\pm 0,5$ Log UI/mL et un R2 de 0,984 et 0,980 respectivement.

Inclusivité : efficacité de détection et de quantification de différents génotypes

L'efficacité de détection de différents génotypes du VIH1 a été évaluée par une comparaison *in silico* des séquences disponibles dans les bases de données de nucléotides.

L'analyse des régions choisies pour l'hybridation des amorces et de la sonde dans l'alignement des séquences du gène de la polymérase (région de l'intégrase) disponibles dans la base de données a montré une conservation de séquence suffisante dans les génotypes du VIH1 groupe M (sous-types A, B, C, D, F, G, H, J, K, L), groupe O, groupe N, groupe P et sous-types de CRF – à savoir, CRF01-AE, CRF02-AG, et CRF03-AB. On s'attend donc à une détection et une quantification efficaces des différents génotypes du VIH1.

L'inclusivité du test, en ce qui concerne l'efficacité de détection et de quantification de différents génotypes, a été vérifiée en testant deux panels de matériel de référence :

- « 1^{ère} préparation de référence internationale de l'OMS pour les CRF du VIH-1 », (NIBSC, code : 13/214) comprenant le groupe O, les CRF 11 GJ, CRF02-AG, CRF01-AE, CRF01 A, G, J, U, CRF BG 24, sous-type J, sous-type C, sous-type G et CRF ADG,
- « Panel des sous-types du VIH1 » (Institute of Virology, Erlangen University Hospital), un panel de 20 membres d'une collection diverse d'échantillons de VIH1 du groupe M sous-types A, B, C, D, CRF01-AE, F, G, H et GH, CRF02-AG, groupe O et groupe N.

Chaque échantillon du panel a été dilué à la concentration de 3 x la LoD (environ 180 UI/mL) dans les échantillons de plasma prélevé sur ACD négatifs et a été testé sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

- « 1 ^{ère} préparation de référence internationale de l'OMS pour les CRF du VIH-1 »					
Sous-type/Groupe	Souche	UI/mL théoriques	Pos./Rép.	Ct moyenne	Moyenne UI/mL
Groupe O	BCF01	180	3/3	31,92	2 808
CRF11 GJ	MP1307	180	3/3	34,60	478
CRF02-AG	P1261	180	3/3	35,34	299
CRF01-AE	CM244	180	3/3	36,48	142
CRF01 A,G,J,U	96CM1849	180	3/3	37,15	90
CRF BG 24	X2456	180	3/3	36,69	123
Sous-type J	SE9173	180	3/3	35,91	210
Sous-type C	X1936	180	3/3	36,01	199
Sous-type G	P962	180	3/3	35,08	344
CRF ADG	24203	180	3/3	34,67	461

Panel de sous-types du VIH1 Erlangen					
ID de l'échantillon	Souche	UI/mL théoriques	Pos./Rép.	Ct moyenne	Moyenne UI/mL
HIV1 A1	92UG029	180	3/3	35,27	345
HIV1 A2	00KE_KER2018	180	3/3	34,62	506
HIV1 B1	92TH026	180	3/3	35,27	311
HIV1 B2	90TH_BK132	180	3/3	34,77	452
HIV1 C1	92BR025	180	3/3	35,01	372
HIV1 C2	99ET_14	180	3/3	34,74	466
HIV1 D1	92UG021	180	3/3	35,53	265
HIV1 D2	92UG035	180	3/3	34,12	683
HIV1 D3	92UG024	180	3/3	34,50	531
HIV1 E1	92TH022	180	3/3	36,28	166
HIV1 F1	93BR029	180	3/3	35,44	282
HIV1 F2	93BR020	180	3/3	35,58	251
HIV1 G	RU570	180	3/3	36,96	109
HIV1 H	VI525	180	3/3	35,11	361
HIV1 GH	VI557	180	3/3	35,17	336
HIV1 AG1	01CM.0005BBY	180	3/3	36,23	176
HIV1 AG2	01CM.0008BBY	180	3/3	34,74	451
HIV1 N	YBF30	180	3/3	30,60	7 694
HIV1 O1	MVP5180	180	3/3	34,47	555
HIV1 O2	CA-9	180	3/3	31,34	4 615

Tous les échantillons ont été correctement détectés et quantifiés au titre théorique de $\pm 0,5$ Log UI/mL (57-569 UI/mL) à l'aide du HIV1 ELITe MGB Kit en association avec l'instrument **ELITe InGenius** à l'exception de quatre échantillons qui ont été surestimés. En particulier, le groupe N et le groupe O du VIH1 ont été surestimés de plus de 1 Log UI/mL par rapport à la valeur théorique. En outre, ces échantillons ont également été surestimés par la méthode « cobas HIV-1 for use on the 6800 Systems » (Roche Diagnostics).

Marqueurs potentiellement interférents : réactivité croisée

La réactivité croisée potentielle du test avec d'autres organismes non souhaitables a été évaluée par une comparaison *in silico* des séquences disponibles dans les bases de données de nucléotides.

Les régions choisies pour l'hybridation des amorces et de la sonde ont été vérifiées par rapport à l'alignement des séquences d'autres organismes disponibles dans les bases de données. L'analyse des régions d'hybridation a montré l'absence d'homologies significatives avec les organismes non souhaitables, à l'exception du VIH2, l'organisme le plus apparenté au VIH1, qui présente une homologie proche de 80 %.

L'absence de réactivité croisée avec d'autres organismes qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques de plasma a également été vérifiée en testant un panel de matériels de référence certifiés.

Des échantillons d'ADN ou d'ARN génomique de différents marqueurs potentiellement interférents (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) ont été analysés à une concentration élevée (au moins 10^5 copies/réaction) en trois réplicats en association avec le système **ELITe InGenius** en mode « PCR Only » (PCR uniquement). L'ADN ou l'ARN génomique de chaque organisme a été ajouté à 80 000 copies de Internal Control par réaction afin d'imiter l'échantillon clinique extrait.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

ID de l'échantillon	HIV1 Pos./Rép.	Résultat
HIV2	3/3	Réactivité croisée
HTLV1	0/3	Aucune réactivité croisée
HTLV2	0/3	Aucune réactivité croisée
CMV	0/3	Aucune réactivité croisée
EBV	0/3	Aucune réactivité croisée
VHA	0/3	Aucune réactivité croisée
HIV1	0/3	Aucune réactivité croisée
VHC	0/3	Aucune réactivité croisée
VHE	0/3	Aucune réactivité croisée
HSV1	0/3	Aucune réactivité croisée
HSV2	0/3	Aucune réactivité croisée
HHV6	0/3	Aucune réactivité croisée
VZV	0/3	Aucune réactivité croisée

ID de l'échantillon	HIV1 Pos./Rép.	Résultat
Grippe A	0/3	Aucune réactivité croisée
Grippe B	0/3	Aucune réactivité croisée
RSV	0/3	Aucune réactivité croisée
ADV	0/3	Aucune réactivité croisée
VNO	0/3	Aucune réactivité croisée
DV3	0/3	Aucune réactivité croisée
EV	0/3	Aucune réactivité croisée
PVB19	0/3	Aucune réactivité croisée
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	Aucune réactivité croisée
<i>Candida albicans</i>	0/3	Aucune réactivité croisée

Tous les marqueurs potentiellement interférents testés n'ont montré aucune réactivité croisée pour la cible VIH1 à l'aide du produit HIV1 ELITe MGB Kit mais une réactivité croisée a été observée avec le VIH2, qui est susceptible de générer des résultats positifs avec une quantification 2 000 fois inférieure au titre théorique du VIH2.

Marqueurs potentiellement interférents : interférence

L'absence d'interférence par d'autres organismes qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques de plasma a été vérifiée en testant un panel de matériels de référence certifiés.

Des échantillons d'ADN ou d'ARN génomique de différents marqueurs potentiellement interférents (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) à une concentration élevée (au moins 10^5 copies/réaction) ont été dopés avec de l'ARN génomique du VIH1 (PEI) à une faible concentration (environ 20 copies/réaction). Les échantillons ont été analysés en trois réplicats en association avec le système **ELITe InGenius** en mode « PCR Only » (PCR uniquement). Chaque échantillon a été ajouté à 80 000 copies de contrôle interne par réaction afin d'imiter l'échantillon clinique extrait.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

ID de l'échantillon	HIV1 Pos./Rép.	Résultat
HIV2	3/3	Aucune interférence
HTLV1	3/3	Aucune interférence
HTLV2	3/3	Aucune interférence
CMV	3/3	Aucune interférence
EBV	3/3	Aucune interférence
VHA	3/3	Aucune interférence
HIV1	3/3	Aucune interférence
VHC	3/3	Aucune interférence
VHE	3/3	Aucune interférence
HSV1	3/3	Aucune interférence
HSV2	3/3	Aucune interférence
HHV6	3/3	Aucune interférence
VZV	3/3	Aucune interférence
Grippe A	3/3	Aucune interférence
Grippe B	3/3	Aucune interférence
RSV	3/3	Aucune interférence
ADV	3/3	Aucune interférence
VNO	3/3	Aucune interférence
DV3	3/3	Aucune interférence
EV	3/3	Aucune interférence
PVB19	3/3	Aucune interférence
<i>Staphylococcus aureus</i>	3/3	Aucune interférence
<i>Candida albicans</i>	3/3	Aucune interférence

La présence des organismes potentiellement interférents testés n'a montré aucune inhibition de l'amplification de la cible VIH1 à l'aide du produit HIV1 ELITe MGB Kit.

Remarque : même si le VIH2 n'inhibe pas la détection du VIH1, il peut entraîner une quantification excessive du VIH1 dans les échantillons des individus doublement infectés en raison de la réactivité croisée du VIH2.

Substances potentiellement interférentes

L'effet de substances potentiellement interférentes a été évalué en analysant le panel « AcroMetrix® Inhibition Panel » (Thermo Fisher Scientific Inc.), qui contient des substances endogènes entraînant une hémolyse, un ictère et une lipémie, ainsi que des substances exogènes, notamment l'EDTA et l'héparine.

Les échantillons du panel d'inhibition ont été dopés avec un matériel de référence certifié du VIH1 (PEI) à une concentration de 3 x la LoD (environ 180 UI/mL).

De plus, 14 autres substances potentiellement interférentes ont été testées à la concentration pertinente : Ganciclovir, Azithromycine, Abacavir, Emtricitabine, Lamivudine, Ténofovir, Doravirine, Efavirenz, Rilpivirine, Atazanavir, Darunavir, Bictégravir, Elvitégravir, Maraviroc.

Les substances ont été individuellement ajoutées à des échantillons de plasma prélevé sur ACD négatifs pour le VIH1, dopés avec un matériel de référence certifié du VIH1 (PEI) à une concentration de 3 x la LoD (environ 180 UI/mL).

Les échantillons ont été traités en trois réplicats sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR). Les valeurs Ct (échantillons de référence et de test) de la cible VIH1 et du contrôle interne ont été utilisées pour calculer le pourcentage du coefficient de variation (% CV) afin d'évaluer l'éventuelle interférence.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Échantillon	HIV1 Pos./Rép.	% CV Ct du VIH1	% CV Ct de l'IC	Résultat
EDTA	3/3	1,91	0,96	Aucune interférence
Héparine	0/3	N.A.	10,82	Interférence
Sang hémolytique, concentration élevée	3/3	0,99	1,35	Aucune interférence
Plasma lipémique	3/3	0,94	0,44	Aucune interférence
Plasma ictérique	3/3	1,10	2,44	Aucune interférence
Ganciclovir	3/3	0,80	0,32	Aucune interférence
Azithromycine	3/3	0,92	0,41	Aucune interférence
Abacavir	3/3	1,61	0,53	Aucune interférence
Emtricitabine	3/3	1,06	0,65	Aucune interférence
Lamivudine	3/3	1,61	0,47	Aucune interférence
Ténofovir	3/3	0,84	0,92	Aucune interférence
Doravirine	3/3	1,03	0,59	Aucune interférence
Efavirenz	3/3	1,70	1,12	Aucune interférence
Rilpivirine	3/3	1,11	0,39	Aucune interférence
Atazanavir	3/3	0,87	0,73	Aucune interférence
Darunavir	3/3	1,53	0,91	Aucune interférence
Bictégravir	3/3	1,09	0,42	Aucune interférence
Elvitégravir	3/3	1,23	0,63	Aucune interférence
Maraviroc	3/3	1,68	0,78	Aucune interférence

La majorité des substances testées n'entraînent aucune interférence avec l'amplification du VIH1 ou du contrôle interne. Le pourcentage % CV des valeurs Ct était inférieur à 2,5 %.

Il a été confirmé que l'héparine était capable d'inhiber l'amplification du VIH1 mais que, grâce à la valeur seuil du contrôle interne (Ct de l'IC < 33), le résultat des échantillons est « non valide » et pas « faux négatif ».

Absence de contamination croisée

L'absence de contamination croisée a été testée en analysant les résultats de cinq sessions d'analyse au cours desquelles des échantillons de plasma négatifs pour l'ARN du VIH1 étaient testés en alternance avec des échantillons de plasma dopés avec un matériel de référence certifié du VIH1 (ZeptoMetrix) à une concentration de 1 x 10⁶ UI/mL.

Cinq séries d'échantillons, avec une alternance de six échantillons positifs et six échantillons négatifs, ont été testées sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	Négatif	Positif
Plasma prélevé sur ACD dopé à 1 x 10 ⁶ UI/mL de HIV1	30	0	30
Plasma prélevé sur ACD négatif pour le VIH1	30	30	0

Aucun des échantillons négatifs pour le VIH1 testés n'a généré de résultats faux positifs. Dans ce test, aucune contamination croisée n'a été détectée (intra-session et inter-sessions).

Taux de défaillance de l'ensemble du système

Le taux de défaillance de l'ensemble du système, entraînant des résultats faux négatifs, a été vérifié en association avec le système **ELITe InGenius** en analysant un panel d'échantillons dopés avec l'ARN du VIH1 à un faible titre.

100 échantillons différents de plasma prélevé sur EDTA et 30 échantillons différents de plasma prélevé sur ACD, testés négatifs pour l'ARN du VIH1, ont été dopés avec un matériel de référence certifié (PEI) à une concentration de 3 x la LoD (environ 180 UI/mL). Les échantillons ont été testés sur le système ELITe InGenius en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	Négatif	Positif	UI/mL moyennes du VIH1
Plasma prélevé sur EDTA dopé avec le VIH1	100	0	100	247
Plasma prélevé sur ACD dopé avec le VIH1	30	0	30	196

Aucun des échantillons positifs pour le VIH1 testés n'a généré de résultats faux négatifs. Dans ce test, le taux de défaillance de l'ensemble du système était de 0 %.

Le taux de défaillance de l'ensemble du système, entraînant des résultats faux négatifs, a été vérifié en association avec le système **ELITe BeGenius** en analysant un panel d'échantillons dopés avec l'ARN du VIH1 à un faible titre.

100 échantillons différents de plasma prélevé sur EDTA testés négatifs pour l'ARN du VIH1 ont été dopés avec un matériel de référence certifié (PEI) à une concentration de 3 x la LoD (environ 180 UI/mL). Les échantillons ont été testés sur le système ELITe BeGenius en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	Négatif	Positif	UI/mL moyennes du VIH1
Plasma prélevé sur EDTA dopé avec le VIH1	100	0	100	294

Aucun des échantillons positifs pour le VIH1 testés n'a généré de résultats faux négatifs. Dans ce test, le taux de défaillance de l'ensemble du système était de 0 %.

Répétabilité

La répétabilité des résultats obtenus avec le produit HIV1 ELITe MGB Kit en association avec les instruments **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** a été testée en analysant un panel d'échantillons de plasma. Le panel incluait un (1) échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VIH1 (PEI) à une concentration de 3 x la LoD (environ 180 UI/mL) et de 10 x la LoD (environ 600 UI/mL).

La répétabilité a été obtenue en analysant les échantillons du panel en quatre réplicats, à raison de deux analyses par jour, en utilisant le même lot de produit, sur deux jours différents. Trois lots de produit ont été utilisés avec le même instrument et le même opérateur. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les valeurs Ct de la cible et du contrôle interne ont été utilisées pour calculer le % CV afin d'évaluer la répétabilité en tant qu'imprécision.

Un résumé des résultats est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Répétabilité intra-session avec le système ELITe InGenius								
Échantillon	HIV1				Contrôle Interne			
	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV
Négatif	0/8	Indéterminé	-	-	24/24	29,38	0,30	1,01
3 x la LoD	8/8	34,91	0,34	0,99				
10 x la LoD	8/8	33,08	0,24	0,73				

Répétabilité inter-sessions avec le système ELITe InGenius								
Échantillon	HIV1				Contrôle Interne			
	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV
Négatif	0/16	Indéterminé	-	-	48/48	29,40	0,27	0,91
3 x la LoD	16/16	35,00	0,37	1,07				
10 x la LoD	16/16	33,13	0,21	0,63				

Dans le test de répétabilité sur l'instrument **ELITe InGenius**, l'analyse détectait la cible HIV1 comme attendu et montrait des valeurs Ct avec un % CV inférieur à 5 % pour le HIV1 et le Internal Control.

La répétabilité des résultats obtenus à l'aide du produit HIV1 ELITe MGB Kit en association avec le système **ELITe BeGenius** a été testée en analysant un panel d'échantillons de plasma. Le panel incluait un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VIH1 (4^e étalon international de l'OMS, NIBSC) à une concentration de 3 x la LoD (environ 180 UI/mL) et de 10 x la LoD (environ 600 UI/mL).

La répétabilité a été obtenue en analysant les échantillons du panel en huit réplicats, à raison d'une analyse par jour, en utilisant le même lot de produit, sur deux jours différents. Trois lots de produit ont été utilisés avec le même instrument et le même opérateur. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires sur le système **ELITe BeGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les valeurs Ct de la cible et du contrôle interne ont été utilisées pour calculer le % CV afin d'évaluer la répétabilité en tant qu'imprécision.

Un résumé des résultats est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Répétabilité intra-session avec le système ELITe BeGenius								
Échantillon	HIV1				Contrôle Interne			
	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV
Négatif	0/8	Indéterminé	-	-	24/24	29,71	0,40	1,34
3 x la LoD	8/8	35,90	0,72	2,02				
10 x la LoD	8/8	33,94	0,62	1,83				

Répétabilité inter-sessions avec le système ELITe BeGenius								
Échantillon	HIV1				Contrôle Interne			
	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV
Négatif	0/16	Indéterminé	-	-	48/48	29,78	0,32	1,06
3 x la LoD	16/16	35,99	0,59	1,64				
10 x la LoD	16/16	34,11	0,51	1,49				

Dans le test de répétabilité sur l'instrument **ELITe BeGenius**, l'analyse détectait la cible HIV1 comme attendu et montrait des valeurs Ct avec un % CV inférieur à 5 % pour le HIV1 et le Internal Control.

HIV1 ELITe MGB® Kit

réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF

RTK600ING

Reproductibilité

La reproductibilité des résultats obtenus avec le produit HIV1 ELITe MGB Kit en association avec les instruments **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** a été testée en analysant un panel d'échantillons de plasma. Le panel incluait un (1) échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VIH1 (PEI) à une concentration de 3 x la LoD (environ 180 UI/mL) et de 10 x la LoD (environ 600 UI/mL).

La reproductibilité a été obtenue en analysant les échantillons du panel en quatre réplicats, à raison d'une analyse par jour, sur deux jours par site. Trois lots de produit différents ont été utilisés dans trois sites différents, sur trois instruments différents et par trois opérateurs différents. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les valeurs Ct de la cible et du Contrôle Interne ont été utilisées pour calculer le % CV afin d'évaluer la reproductibilité en tant qu'imprécision.

Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Reproductibilité inter-sites avec le système ELITe InGenius								
Échantillon	HIV1				Contrôle Interne			
	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV
Négatif	0/24	Indéterminé	-	-	72/72	29,51	0,40	1,36
3 x la LoD	24/24	35,01	0,66	1,88				
10 x la LoD	24/24	33,34	0,23	0,68				

Reproductibilité inter-lots avec le système ELITe InGenius								
Échantillon	HIV1				Contrôle Interne			
	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV
Négatif	0/48	Indéterminé	-	-	144/144	29,64	0,38	1,29
3 x la LoD	48/48	35,06	0,39	1,10				
10 x la LoD	48/48	33,31	0,32	0,97				

Dans le test de reproductibilité sur l'instrument **ELITe InGenius**, l'analyse détectait la cible HIV1 comme attendu et montrait des valeurs Ct avec un % CV inférieur à 5 % pour le HIV1 et le Internal Control.

La reproductibilité des résultats obtenus à l'aide du produit HIV1 ELITe MGB Kit en association avec le système **ELITe BeGenius** a été testée en analysant un panel d'échantillons de plasma. Le panel incluait un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VIH1 (4^e étalon international de l'OMS, NIBSC) à une concentration de 3 x la LoD (environ 180 UI/mL) et de 10 x la LoD (environ 600 UI/mL).

La reproductibilité a été obtenue en analysant les échantillons du panel en quatre réplicats, à raison d'une analyse par jour, sur deux jours pour chaque instrument. Trois lots de produits différents ont été utilisés avec trois instruments différents et par trois opérateurs différents. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires sur le système **ELITe BeGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les valeurs Ct de la cible et du Contrôle Interne ont été utilisées pour calculer le % CV afin d'évaluer la reproductibilité en tant qu'imprécision.

HIV1 ELITe MGB® Kit

réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF

RTK600ING

Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Reproductibilité inter-instruments avec le système ELITe BeGenius								
Échantillon	HIV1				Contrôle Interne			
	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV
Négatif	0/24	Indéterminé	-	-	72/72	29,97	0,74	2,47
3 x la LoD	24/24	35,86	0,59	1,65				
10 x la LoD	24/24	34,12	0,41	1,19				

Reproductibilité inter-lots avec le système ELITe BeGenius								
Échantillon	HIV1				Contrôle Interne			
	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV	Pos./Rép.	Ct moyenne	EC	% CV
Négatif	0/48	Indéterminé	-	-	144/144	29,92	0,56	1,87
3 x la LoD	48/48	35,79	0,67	1,87				
10 x la LoD	48/48	34,06	0,33	0,98				

Dans le test de reproductibilité sur l'instrument **ELITe BeGenius**, l'analyse détectait la cible HIV1 comme attendu et montrait des valeurs Ct avec un % CV inférieur à 5 % pour le HIV1 et le Internal Control.

Facteur de conversion en unités internationales

Le facteur de conversion, permettant d'exprimer les résultats quantitatifs en unités internationales/mL à partir d'un nombre de copies/mL, a été calculé en utilisant un panel de quatre dilutions (0,5 Log entre les dilutions) du matériel de référence étalonné certifié « 4^e étalon international pour le VIH1 de l'OMS » (NIBSC) dans du plasma prélevé sur EDTA testé négatif pour l'ARN du VIH1.

Chaque point du panel a été testé en 27 réplicats en utilisant trois lots de produit différents, sur trois instruments différents et trois jours différents. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Le facteur de conversion a été calculé par l'analyse de la différence de concentration logarithmique entre le titre de référence en UI/mL et les résultats obtenus en copies/mL, et s'avère être de 2,3 UI/copie.

Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Facteur de conversion en unités internationales, Fc = 2,3 UI/copie						
Échantillon de référence			Résultat			
UI/mL	Log UI/mL	N	Nombre moyen de copies/mL	UI moyennes/mL	Log UI moyennes/mL	Différence log. (réf. - test)
10 000	4,0000	27	4 052	9 320	3,9623	+0,0377
3 162	3,5000	26	1 379	3 172	3,4913	+0,0087
1 000	3,0000	27	500	1 149	3,0494	-0,0494
316	2,5000	27	156	359	2,5366	-0,0366

Étant donné que l'équivalence entre le plasma prélevé sur EDTA et le plasma prélevé sur ACD a été démontrée (se reporter aux sections « Équivalence des matrices » et « Plage de mesure linéaire »), le facteur de conversion peut être appliqué aux deux matrices.

Le facteur de conversion, permettant d'exprimer les résultats quantitatifs en unités internationales/mL à partir d'un nombre de copies/mL, a été vérifié sur les systèmes **ELITe BeGenius** et **ELITe InGenius** en utilisant un panel de dilutions (0,5 Log entre les dilutions) du matériel de référence étalonné certifié (4^e étalon international de l'OMS, NIBSC) dans du plasma prélevé sur EDTA testé négatif pour l'ARN du VIH1. Le panel consistait en cinq points de dilution à partir d'environ 4,0 Log UI/mL jusqu'à 1,9 Log UI/mL. Chaque point du panel a été testé en 4 réplicats.

La précision de quantification cible, en tant qu'écart-type des Log UI/mL, était inférieure à 0,5 Log.

L'exactitude de quantification cible, en tant que différence entre les concentrations théorique et mesurée en Log UI/mL, était inférieure à 0,5 Log.

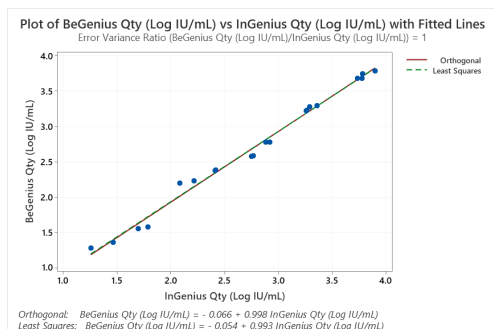
Ces résultats confirmaient le facteur de conversion calculé pour les échantillons de plasma avec l'instrument **ELITe InGenius**.

HIV1 ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

Les résultats obtenus avec les instruments **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** ont été analysés par une régression orthogonale et linéaire afin de calculer la corrélation entre les méthodes.

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



L'analyse de régression orthogonale générerait une ordonnée à l'origine de -0,066 (IC à 95 % : -0,194 ; 0,061) et une pente de 0,998 (CI à 95 % : 0,953 ; 1,042). L'analyse de régression linéaire générerait un R2 de 0,991.

Reproductibilité avec un matériel de référence

La reproductibilité des résultats du test, par comparaison aux résultats obtenus en utilisant d'autres méthodes dans différents laboratoires, a été vérifiée en testant le panel d'étude de référence « QCMD 2018 Human Immunodeficiency Virus RNA EQA Programme » (Qnostics).

Chaque point du panel a été testé sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les valeurs de quantité du consensus des systèmes d'amplification en temps réel disponibles dans le commerce ont été comparées aux résultats du test afin d'évaluer l'exactitude en tant que biais.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Panel du VIH1 QCMD 2018		Consensus	Résultats du test	Différence log. (réf. - test)
ID de l'échantillon	Contenu de l'échantillon	Log c/mL	Log c/mL	
HIV1RNA18S-01	Négatif pour le VIH1	n.a.	n.a.	n.a.
HIV1RNA18S-02	VIH1 de type B	3,777	3,920	-0,143
HIV1RNA18S-03	VIH1 de type B	3,767	3,908	-0,141
HIV1RNA18S-04	VIH1 de type B	2,315	2,449	-0,134
HIV1RNA18S-05	VIH1 de type AG	2,987	3,466	-0,479
HIV1RNA18S-06	VIH1 de type C	2,345	2,316	+0,029
HIV1RNA18S-07	VIH1 de type C	3,357	3,307	+0,050
HIV1RNA18S-08	VIH1 de type C	2,330	2,140	+0,190

Dans ce test, l'analyse a correctement détecté tous les membres du panel. Les sept échantillons positifs ont été quantifiés dans la plage du consensus de la technologie à $\pm 0,5$ Log UI/mL.

La reproductibilité des résultats du test a également été vérifiée en testant le panel « HIV-1 RNA EDTA AccuSet™ Performance Panel » (SeraCare).

Chaque point du panel a été testé sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

La valeur de quantification de référence des échantillons obtenue à l'aide du « COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HIV-1 Test » (Roche Diagnostics) et du « Abbott m2000 RealTime HIV-1 Assay » (Abbott), fournis par SeraCare, a été comparée aux résultats du test afin d'en évaluer l'exactitude, considérée comme biais.

HIV1 ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

Panel SeraCare HIV1		Résultats Roche COBAS	Résultats du test	Différence (réf. - test)
ID de l'échantillon	Lot	Log c/mL	Log c/mL	
SeraCare_01	10047508	2,7482	3,1209	-0,3727
SeraCare_02	10056461	n.a.	n.a.	n.a.
SeraCare_03	10047514	2,2405	2,2068	+0,0337
SeraCare_04	10047519	4,3546	4,2142	+0,1405
SeraCare_05	10044233	3,0799	3,0881	-0,0082
SeraCare_06	10056463	3,2601	3,5190	-0,2590
SeraCare_07	10047518	4,5548	4,8794	-0,3246
SeraCare_08	10047515	4,1651	4,0840	+0,0810
SeraCare_09	10047517	4,5124	4,6529	-0,1405
SeraCare_10	10047520	4,8556	4,8175	+0,0382
SeraCare_11	10057462	4,1700	4,1761	-0,0061
SeraCare_12	10057427	n.a.	n.a.	n.a.

Panel SeraCare HIV1		Résultat Abbott m2000	Résultats du test	Différence (réf. - test)
ID de l'échantillon	Lot	Log c/mL	Log c/mL	
SeraCare_01	10047508	3,0934	3,1209	-0,0275
SeraCare_02	10056461	n.a.	n.a.	n.a.
SeraCare_03	10047514	2,1038	2,2068	-0,1030
SeraCare_04	10047519	4,3077	4,2142	+0,0935
SeraCare_05	10044233	3,1232	3,0881	+0,0351
SeraCare_06	10056463	3,5190	3,5190	+0,0000
SeraCare_07	10047518	4,5339	4,8794	-0,3456
SeraCare_08	10047515	4,2273	4,0840	+0,1433
SeraCare_09	10047517	4,7333	4,6529	+0,0804
SeraCare_10	10047520	4,7928	4,8175	-0,0247
SeraCare_11	10057462	4,0934	4,1761	-0,0826
SeraCare_12	10057427	n.a.	n.a.	n.a.

Dans ce test, l'analyse a correctement détecté tous les membres du panel. Les dix échantillons positifs ont été quantifiés dans la plage des résultats de référence de $\pm 0,5$ Log UI/mL (à l'aide de systèmes d'amplification en temps réel disponibles dans le commerce).

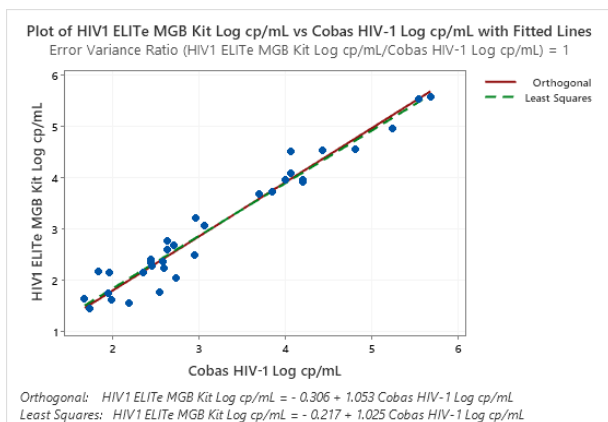
Sensibilité diagnostique : corrélation des méthodes

La sensibilité diagnostique du test, en ce qui concerne la corrélation des résultats obtenus avec différentes méthodes, a été évaluée en association avec le système **ELITe InGenius** en analysant des échantillons cliniques positifs pour l'ARN du VIH1 provenant de patients recevant une thérapie antirétrovirale, compris dans la plage de mesure du HIV1 ELITe MBG Kit, et en utilisant des méthodes de diagnostic moléculaire de référence portant le marquage CE DIV (« cobas HIV-1 for use on the 4800 System » et « cobas HIV-1 for use on the 6800 System », Roche Diagnostics, Cobas HIV-1). Étant donné que les performances analytiques du système **ELITe BeGenius** sont équivalentes à celles du système **ELITe InGenius**, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la sensibilité diagnostique du test obtenue en association avec le système **ELITe InGenius** s'applique également au système **ELITe BeGenius**.

L'étude de corrélation a été réalisée au site 1 sur 33 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA positifs pour l'ARN du VIH1 en utilisant le « cobas HIV-1 for use on the 6800 System » à titre de comparaison.

Chaque échantillon a été testé en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction, la transcription inverse, l'amplification, la détection et l'interprétation des résultats, à l'aide des produits **ELITechGroup S.p.A.** et par les méthodes de référence. Les résultats obtenus avec le HIV1 ELITe MBG Kit et les méthodes de référence ont été analysés par une régression orthogonale et linéaire afin de calculer la corrélation entre les méthodes.

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



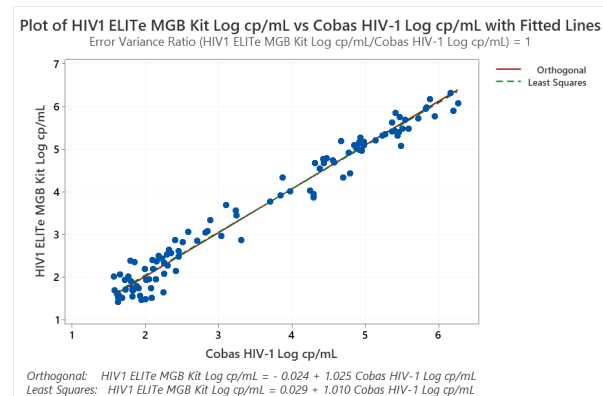
Dans ce test, l'analyse de régression orthogonale générerait une pente de 1,053 (IC à 95 % : 0,967 ; 1,138) et une ordonnée à l'origine de -0,306 (IC à 95 % : -0,591 ; -0,020). L'analyse de régression linéaire générerait une valeur R2 de 0,950.

L'étude de corrélation a été réalisée aux site 2 et site 3 sur les 107 échantillons de plasma prélevé sur EDTA suivants en utilisant le « cobas HIV-1 for use on the 4800 System » à titre de comparaison.

- site 2 : 29 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA positifs pour l'ARN du VIH1,
- site 3 : 78 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA positifs pour l'ARN du VIH1.

Chaque échantillon a été testé en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction, la transcription inverse, l'amplification, la détection et l'interprétation des résultats, à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A. et par les méthodes de référence. Les résultats obtenus avec le HIV1 ELITe MGB Kit et les méthodes de référence ont été analysés par une régression orthogonale et linéaire afin de calculer la corrélation entre les méthodes.

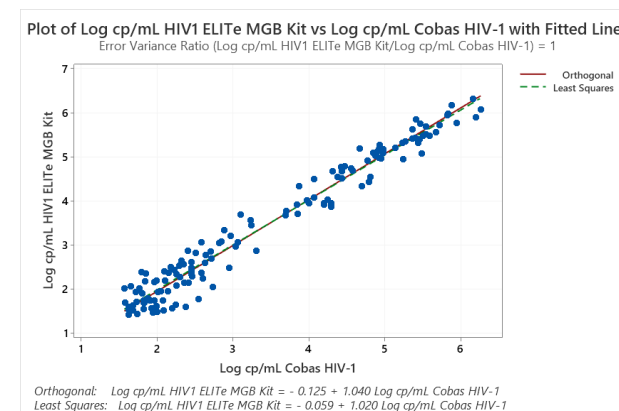
Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



Dans ce test, l'analyse de régression orthogonale générerait une pente de 1,025 (IC à 95 % : 0,992 ; 1,059) et une ordonnée à l'origine de -0,024 (IC à 95 % : -0,152 ; 0,104). L'analyse de régression linéaire générerait une valeur R2 de 0,971.

Étant donné que les deux méthodes de référence (« cobas HIV-1 for use on the 4800 System » et « cobas HIV-1 for use on the 6800 System », Roche Diagnostics, Cobas HIV-1) présentent des performances équivalentes, l'étude de corrélation a également été réalisée avec les résultats regroupés des trois différents sites.

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



Dans ce test, l'analyse de régression orthogonale générerait une pente de 1,040 (CI à 95 % : 1,006-1,073) et une ordonnée à l'origine de -0,125 (IC à 95 % : - 0,248-0,002). L'analyse de régression linéaire générerait une valeur R2 de 0,964.

Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, en ce qui concerne le pourcentage de concordance négative des résultats obtenus avec différentes méthodes, a été évaluée en association avec le système **ELITe InGenius** en analysant des échantillons cliniques négatifs pour l'ARN du VIH1 testés par des méthodes de diagnostic moléculaire de référence portant le marquage CE DIV (« cobas HIV-1 for use on the 4800 System » et « cobas HIV-1 for use on the 6800 System », Roche Diagnostics, Cobas HIV-1). Étant donné que les performances analytiques du système **ELITe BeGenius** sont équivalentes à celles du système ELITe InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la spécificité diagnostique du test obtenue en association avec le système ELITe InGenius s'applique également au système ELITe BeGenius.

Étant donné que les deux méthodes de référence (« cobas HIV-1 for use on the 4800 System » et « cobas HIV-1 for use on the 6800 System », Roche Diagnostics, Cobas HIV-1) présentent des performances équivalentes, l'étude de la spécificité diagnostique a été réalisée avec les résultats regroupés des trois différents sites sur les 196 échantillons de plasma prélevé sur EDTA suivants.

- site 1 : 90 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA négatifs pour l'ARN du VIH1,
- site 2 : 77 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA négatifs pour l'ARN du VIH1,
- site 3 : 29 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA négatifs pour l'ARN du VIH1.

Chaque échantillon a été testé en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction, la transcription inverse, l'amplification, la détection et l'interprétation des résultats, à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A. Les résultats obtenus à l'aide du HIV1 ELITe MGB Kit ont été analysés afin de calculer le pourcentage de concordance négative avec les méthodes de référence.

HIV1 ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

Les résultats, après analyse des échantillons discordants, sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	Positif	Négatif	Non valide	Spécificité diagnostique
Plasma prélevé sur EDTA négatif pour l'ARN du VIH1	196	1	195	0	99,5 %

Dans ce test, 195 échantillons ont été confirmés négatifs. Un (1) échantillon a généré un résultat positif discordant avec un titre inférieur à la LoD du HIV1 ELITe MGB Kit et des méthodes de référence. Cet échantillon possédait un très faible titre susceptible de générer des résultats positifs de manière aléatoire. La spécificité diagnostique du HIV1 ELITe MGB Kit était de 99,5 %.

Remarque : les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et l'instrument sont présentés à la section 7 de la Fiche technique du produit « HIV1 ELITe MGB Kit », FTP 600ING.

BIBLIOGRAPHIE

J. Müller et al. (2007) *J. Virol. Methods* **142**: 127 - 135.
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* **35**: e30.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser ce produit uniquement avec les échantillons cliniques suivants : plasma prélevé sur EDTA ou ACD.

Le plasma prélevé sur EDTA ou sur ACD peut être obtenu à partir de sang total conservé à +2/+25 °C pendant 24 heures au maximum.

Ne pas utiliser de plasma prélevé sur héparine avec ce produit : l'héparine inhibe la réaction d'amplification des acides nucléiques et génère des résultats non valides.

Il n'existe actuellement aucune donnée disponible en ce qui concerne les performances du produit avec d'autres échantillons cliniques tels que sang total, sérum, ou LCR.

Ce produit n'est pas destiné à être utilisé comme un test de dépistage de la présence du VIH1 dans le sang ou les produits sanguins, ou comme un test diagnostique pour confirmer la présence d'une infection par le VIH1.

Ce produit présente une réactivité croisée avec le VIH2 susceptible de générer des résultats positifs avec une quantification 2 000 fois inférieure au titre théorique du VIH2. Cependant, compte tenu de l'utilisation prévue du produit, de l'épidémiologie du VIH2 et de la mise en œuvre d'algorithmes de diagnostic clairs (par exemple, CDC) visant à distinguer l'infection par le VIH1 de celle par le VIH2, la réactivité croisée du VIH2 ne représente pas un réel problème. Néanmoins, le HIV1 ELITe MGB Kit n'est pas idéal pour aider à la prise en charge des personnes doublement infectées par le VIH1 et le VIH2. Dans ce cas, le VIH2 n'inhibe pas la détection du VIH1 mais peut entraîner une quantification excessive du VIH1 en raison de la réactivité croisée du VIH2.

Les résultats obtenus avec ce produit dépendent de l'identification, du prélèvement, du transport, de la conservation et du traitement corrects des échantillons. Afin d'éviter tout résultat incorrect, il est par conséquent nécessaire de prendre des précautions particulières pendant ces étapes et de suivre scrupuleusement le mode d'emploi fourni avec le produit.

La méthode d'amplification en temps réel utilisée dans ce produit présente une sensibilité analytique élevée qui la rend sensible aux contaminations croisées par les échantillons positifs, les contrôles positifs et les produits d'amplification eux-mêmes. Les contaminations croisées peuvent générer des résultats faux positifs. Le format du produit est capable de limiter les contaminations croisées. Toutefois, les contaminations croisées ne peuvent être évitées qu'en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et en suivant le présent mode d'emploi.

Ce produit doit être manipulé par du personnel qualifié et dûment formé au traitement des échantillons biologiques potentiellement infectieux et des préparations chimiques classifiées comme dangereuses, afin de prévenir les accidents pouvant avoir des conséquences potentiellement graves pour l'utilisateur et les autres personnes.

HIV1 ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTK600ING

Ce produit exige de porter des vêtements de travail et de disposer de zones appropriées dédiées au traitement des échantillons biologiques potentiellement infectieux et des préparations chimiques classifiées comme dangereuses, afin de prévenir les accidents pouvant avoir des conséquences potentiellement graves pour l'utilisateur et les autres personnes.

Ce produit exige de porter des vêtements spéciaux et d'utiliser des instruments dédiés au paramétrage des sessions de travail afin d'éviter tout résultat faux positif.

Afin d'éviter des résultats incorrects, le produit doit être manipulé par du personnel professionnel, qualifié et dûment formé aux techniques de biologie moléculaire telles que l'extraction, l'amplification et la détection d'acides nucléiques.

Il est nécessaire de disposer de zones séparées pour la préparation du mélange réactionnel complet et l'extraction/l'amplification/la détection des produits d'amplification pour éviter des résultats « faux positifs ».

En raison de différences intrinsèques entre les technologies, il est recommandé aux utilisateurs d'effectuer des études de corrélation des méthodes afin d'évaluer les différences de technologie avant d'envisager d'en utiliser une nouvelle.

Un résultat négatif obtenu avec ce produit signifie que de l'ARN cible n'a pas été détecté dans l'ARN extrait de l'échantillon ; toutefois, il n'est pas possible d'exclure le fait que de l'ARN cible soit présent à un titre inférieur à la limite de détection du produit (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »). Dans ce cas, le résultat pourrait être un faux négatif.

Les résultats obtenus avec ce produit peuvent parfois être non valides en raison d'un échec du Contrôle Interne. Dans ce cas, l'échantillon doit être testé à nouveau, en commençant par l'extraction, ce qui peut entraîner des retards d'obtention des résultats finaux.

D'éventuels polymorphismes, insertions ou délétions au sein de la région de l'ARN cible couverte par les amorces et les sondes du produit peuvent affecter la détection et la quantification de l'ARN cible.

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, les résultats obtenus avec ce produit doivent être interprétés en tenant compte de l'ensemble des données cliniques et des autres analyses de laboratoire effectuées chez le patient.

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, il existe un risque résiduel d'obtention de résultats non valides, faux positifs et faux négatifs avec ce produit. Ce risque résiduel ne peut pas être éliminé ni réduit par la suite. Dans certains cas, ce risque résiduel pourrait contribuer à prendre de mauvaises décisions, avec des effets potentiellement dangereux pour le patient.

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Réaction des étalons Q-PCR Standard ou du Positive Control non valide	
Courbe d'étalonnage non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet, des étalons Q-PCR Standards et du contrôle positif. Vérifier le volume du mélange réactionnel complet, des étalons Q-PCR Standards et du contrôle positif.
Erreur de préparation du mélange réactionnel complet.	Vérifier le volume des réactifs utilisés pendant la préparation du mélange réactionnel complet.
Dégradation du mélange réactionnel complet ou de ses sous-composants.	Ne pas utiliser le mélange réactionnel complet pendant plus de trois sessions (7 heures dans la « Inventory Area » [Zone inventaire]). Ne pas exposer le RT EnzymeMix à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes. Ne pas laisser le mélange réactionnel complet à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Utiliser une nouvelle aliquote des sous-composants.
Dégradation des étalons Q-PCR Standards ou du Contrôle Positif	Ne pas utiliser le Q-PCR Standard pendant plus de 2 sessions d'analyse indépendantes (de 2 heures chacune dans la « Extraction Area » [Zone d'extraction]). Ne pas utiliser le Contrôle Positif pendant plus de 4 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans la « Extraction Area » [Zone d'extraction]). Utiliser de nouvelles aliquotes des étalons Q-PCR Standards ou du Contrôle Positif.
Erreur de l'instrument.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

Réaction du Contrôle Négatif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet et du contrôle négatif. Vérifier le volume du mélange réactionnel complet et du contrôle négatif.
Contamination du mélange réactionnel complet ou de ses sous-composants.	Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.
Contamination du Negative Control.	Ne pas utiliser le Contrôle Négatif pour plus d'une (1) seule session d'analyse. Utiliser une nouvelle aliquote d'eau de qualité biologie moléculaire.
Contamination de la zone d'extraction, des portoirs ou du « Inventory Block » (Bloc inventaire).	Nettoyer les surfaces avec des détergents aqueux, laver les blouses de laboratoire, remplacer les tubes à essai et les cônes utilisés.
Erreur de l'instrument.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet et de l'échantillon. Vérifier le volume du mélange réactionnel complet et de l'échantillon.
Erreur de préparation du mélange réactionnel complet.	Vérifier le volume des réactifs utilisés pendant la préparation du mélange réactionnel complet.
Dégradation du mélange réactionnel complet ou de ses sous-composants.	Ne pas utiliser le mélange réactionnel complet pendant plus de trois sessions (7 heures dans la « Inventory Area » [Zone inventaire]). Ne pas laisser le mélange réactionnel complet à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Ne pas exposer le RT EnzymeMix à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes. Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des sous-composants.
Dégradation de la matrice du Contrôle Interne	Utiliser une nouvelle aliquote du Contrôle Interne
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification avec une dilution à 1:2 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR uniquement). Répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
Erreur de l'instrument.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

Erreur 30103	
Causes possibles	Solutions
Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon.	En cas d'observation d'une amplification significative sur la courbe de PCR : - sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat. Si une valeur Ct est requise : Répéter l'amplification avec une dilution à 1:10 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR uniquement), ou - répéter l'extraction avec une dilution à 1:10 de l'échantillon primaire dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Erreur TH, Erreur SDM, Erreur Ct	
Causes possibles	Solutions
Forme anormale de la courbe de l'échantillon.	En cas d'observation d'une amplification significative sur la courbe de PCR générant une erreur : Répéter l'amplification avec une dilution à 1:10 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR uniquement), ou - répéter l'extraction avec une dilution à 1:10 de l'échantillon primaire dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

LÉGENDE DES SYMBOLES



Numéro de référence.



Limite supérieure de température.



Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.



Conforme aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. Certifié par DEKRA Certification B.V., Pays-Bas.



Contenu suffisant pour « N » tests.



Attention, consulter le mode d'emploi.



Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

Ce produit contient des réactifs fabriqués par Thermo Fisher Scientific et commercialisés selon des accords de licence entre ELITechGroup S.p.A. et ses filiales et Thermo Fisher Scientific. Le prix d'achat de ce produit inclut des droits, limités et non transférables, qui permettent d'utiliser uniquement cette quantité du produit dans le seul objectif de satisfaire aux activités de l'acheteur qui sont directement liées à la réalisation de tests diagnostiques chez l'homme. Pour obtenir des informations sur l'achat d'une licence relative à ce produit à des fins autres que celles mentionnées ci-dessus, contacter le Licensing Department, Thermo Fisher Scientific. Email : outlicensing@thermofisher.com.

Les réactifs de détection ELITe MGB® sont couverts par un ou plusieurs des brevets américains numéros 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,163,910, 8,389,745, 8,969,003, 8,980,855, 9,056,887, 9,085,800, 9,169,256 et par les brevets EP numéros 1068358, 1144429, 1232157, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939, ainsi que par des demandes de brevet actuellement en instance.

La technologie ELITe InGenius® et ELITe BeGenius® est couverte par des brevets et des demandes de brevets.

Cette licence limitée permet à la personne ou à l'entité à laquelle ce produit a été fourni d'utiliser le produit, ainsi que les données générées par son utilisation, uniquement à des fins de diagnostic chez l'être humain. Ni ELITechGroup S.p.A. ni ses concédants n'accordent d'autres licences, explicites ou implicites, à d'autres fins.

TaqMan™ est une marque de commerce de Thermo Fisher Scientific.
cobas® est une marque déposée de Roche Diagnostics.
ELITe MGB®, le logo ELITe MGB®, ELITe InGenius® et ELITe BeGenius® sont des marques déposées d'ELITechGroup au sein de l'Union européenne.



Caution, this document is a simplified version of the official instruction for use. This document is available only in English.
 Please refer to the complete document before use: www.elitechgroup.com

Intended use

The "HIV1 ELITe MGB® Kit" product is a quantitative nucleic acids reverse transcription and amplification assay for the detection and the quantification of the RNA of Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV1) in RNA samples extracted from clinical specimens. The assay is able to detect the RNA of HIV1 belonging to group M (subtypes A, B, C, D, F, G, H, J, K, L), group O, group N and major CRF subtypes CRF01-AE, CRF02-AG and CRF03-AB.

The assay is validated in association with "ELITe InGenius®" and "ELITe BeGenius®" system starting from human plasma collected in EDTA or in ACD samples.

The product is intended for use as an aid in the management of HIV1-infected individuals undergoing antiviral therapy, together with patient's clinical data and other laboratory test results.

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	HIV1 polymerase gene (integrase region)	FAM	HIV1
Internal Control	MS2	AP525	IC

Validated matrix

› Plasma EDTA

› Plasma ACD

Kit content

HIV1 ELITe MGB Mix		HIV1 ELITe Standard		HIV1 - ELITe Positive Control	HIV1 Internal Control
 X 4	 X 2	    X 1		 X 2	 X 8
HIV PCR Mix 4 tubes of 600 µL 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles	RT Enzyme Mix 2 tubes of 20 µL 96 reactions per kit 10 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Calibrators: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 set of 4 tubes of 160 µL 2 freeze-thaw cycles		Ready-to-use PC 2 tubes of 160 µL 8 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles	Ready-to-use IC 8 tubes of 160 µL 96 extractions per kit 12 freeze-thaw cycles

Maximum shelf-life: **18 months**

Storage Temperature: **-20 °C**

Material required not provided in the kit

- › ELITe InGenius instrument: INT030
- › ELITe BeGenius instrument: INT040
- › ELITe InGenius SP 1000 Extraction Cartridge: INT033SP1000
- › ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR
- › ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS
- › ELITe InGenius Waste Box: F2102-000
- › Filter Tips 300 µL: TF-350-L-R-S
- › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118

ELITe InGenius and ELITe BeGenius protocol

› Sample volume	600 µL	› Unit of quantitative result	International Unit: IU/mL
› HIV1 CPE volume	10 µL		Copies: Copies/mL
› Total elution volume	50 µL	› Conversion factor to IU	2.3 IU/copy
› PCR elution input volume	20 µL	› Frequency of controls	15 days
› Complete PCR Mix volume	20 µL	› Frequency of calibration	60 days

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performance

Matrix	Limit of Detection	Method Correlation	Diagnostic Specificity
Plasma	60 IU / mL 26 copies / mL	R² = 0.964 141 quantified samples	99.5% 195 confirmed samples / 196 tested samples

reference methods:

"cobas® HIV1 for use on the 4800 Systems" and

"cobas® HIV1 for use on the 6800 Systems", Roche Diagnostics.

Sample preparation

Plasma samples collected in EDTA or ACD samples must be identified according to laboratory guidelines, transported and stored at room temperature (~+25 °C) for a maximum of one day or at +2 / +8 °C for a maximum of three days. Otherwise, they must be frozen and stored at ~-20 °C for a maximum of one month or at ~-70 °C for six months. Do not use Plasma collected in heparin in order to prevent inhibition of amplification reaction and frequent invalid results.

ELiTe InGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the ELiTe InGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, reverse transcription, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational modes are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

Before analysis

1. Switch on ELiTe InGenius. Log in with username and password Select the mode "Closed"	2. Verify calibrators: HIV1 Q-PCR Standard in the "Calibration" menu Verify controls: HIV1 Positive Control and HIV1 Negative Control in the "Controls" menu <i>Note:</i> Both must have been run, approved and not expired	3. Thaw the HIV1 PCR Mix and the HIV1 CPE tubes Vortex gently Spin down 5 sec Keep the RT EnzymeMix in ice
---	--	--

4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0.3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0.3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4.4 μL

5. Vortex gently
Spin down 5 sec
Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "1000 μL ", elution: "50 μL "	3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay protocol" of interest: HIV1 ELiTe_PL_600_50	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the inventory block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 2 - PCR only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the method "PCR only" and set the sample position "Elution Tube"	6. Load the complete reaction mixture in the inventory block
7. Load: PCR cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the method "Extraction Only" and set the sample position: Extraction Tube	6. Load the Internal Control in the inventory block
7. Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door Start the run	9. Archive the eluate sample

ELiTe BeGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the ELiTe BeGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

Before analysis

1. Switch on ELiTe BeGenius.
Log in with username and password
Select the mode "Closed"
2. Verify calibrators: **HIV1 Q-PCR Standard** in the "Calibration" menu
Verify controls: **HIV1 Positive Control** and **HIV1 Negative Control** in the "Controls" menu
Note: Both must have been run, approved and not expired
3. Thaw the **HIV1 PCR Mix** and the **HIV1 CPE** tubes
Vortex gently
Spin down 5 sec
Keep the **RT EnzymeMix** in ice

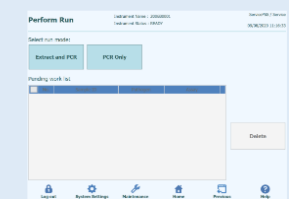
4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0.3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0.3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4.4 μL

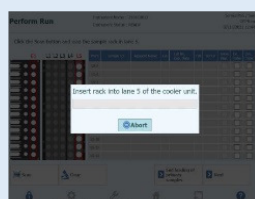
5. Vortex gently
Spin down 5 sec
Keep the complete reaction mixture in ice. Do not expose to direct light.

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

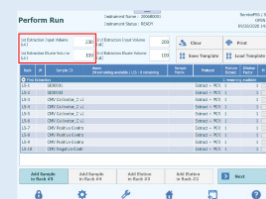
1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extraction and PCR»



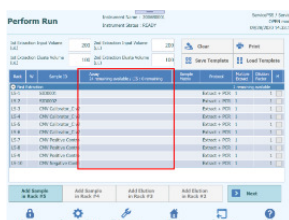
2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the cooling area. The barcode scan is already active



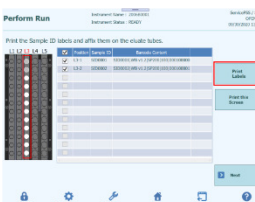
3. Verify the extraction volumes:
Input: "600 μL ", Eluate: "50 μL "



4. Select the "Assay protocol" of interest



5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the cooling area



6. Load the complete reaction mixture and the CPE Internal Control in Reagent Rack and insert it in the cooling area



Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4

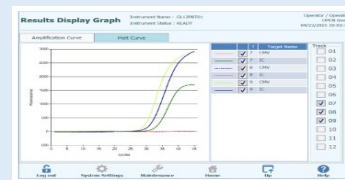
7. Load: Filter Tips, Extraction rack, and PCR rack



8. Close the door. Start the run



9. View, approve and store the results



Procedure 2 - PCR only

1. Select "Perform Run" on the touch screen and the click on the run mode «PCR Only»
2. Load the extracted nucleic acid barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the cooling area
3. Select the "Assay protocol" of interest
4. Load the complete reaction mixture in Reagent Rack and insert it in the cooling area Load filter tips and the PCR rack
5. Close the door. Start the run
6. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

1 to 4 : Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the protocol "Extraction Only" in the Assay Protocol selection screen.	6. Load the CPE Internal Control in the Elution Rack and insert it in the cooling area
7. Load : Filter Tips and the Extraction Rack	8. Close the door Start the run	9. Archive the eluate sample