



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

reagentes para transcrição reversa de ARN e amplificação em tempo real de cADN

REF RTK600ING



ÍNDICE

UTILIZAÇÃO PREVISTA	página 1
PRINCÍPIOS DO ENSAIO	página 2
DESCRIÇÃO DO PRODUTO	página 3
MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO	página 4
MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	página 4
OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	página 4
AVISOS E PRECAUÇÕES	página 5
ELITE INGENIUS®	página 7
AMOSTRAS E CONTROLOS	página 7
PROCEDIMENTO	página 8
ELITE BEGENIUS®	página 15
AMOSTRAS E CONTROLOS	página 15
PROCEDIMENTO	página 16
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DO ELITE INGENIUS® e ELITE BEGENIUS®	página 21
REFERÊNCIAS	página 36
LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	página 36
RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	página 37
SÍMBOLOS	página 39
NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	página 39
ANEXO	página A

UTILIZAÇÃO PREVISTA

O produto «HIV1 ELITE MGB® Kit» é um ensaio quantitativo de transcrição reversa e amplificação de ácidos nucleicos para a **deteção e quantificação do ARN** do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (VIH-1) em amostras de ARN extraídas de espécimes clínicos.

O ensaio é capaz de detetar o ARN do VIH-1 pertencente ao grupo M (subtipos A, B, C, D, F, G, H, J, K, L), grupo O, grupo N e CRF importante, subtipos CRF01-AE, CRF02-AG e CRF03-AB.

O ensaio é validado em associação com o sistema «ELITE InGenius®» e «ELITE BeGenius®» a partir de amostras de plasma humano colhido em EDTA ou em ACD.

O produto está previsto para utilização como auxiliar na gestão de indivíduos infetados pelo VIH-1 e sujeitos a terapia antiviral, em conjunto com os dados clínicos do paciente e outros resultados de testes laboratoriais.

Este produto não está previsto para utilização como teste de rastreio da presença de VIH1 no sangue ou em produtos de sangue ou como teste de diagnóstico para confirmar a presença de uma infeção pelo VIH1.

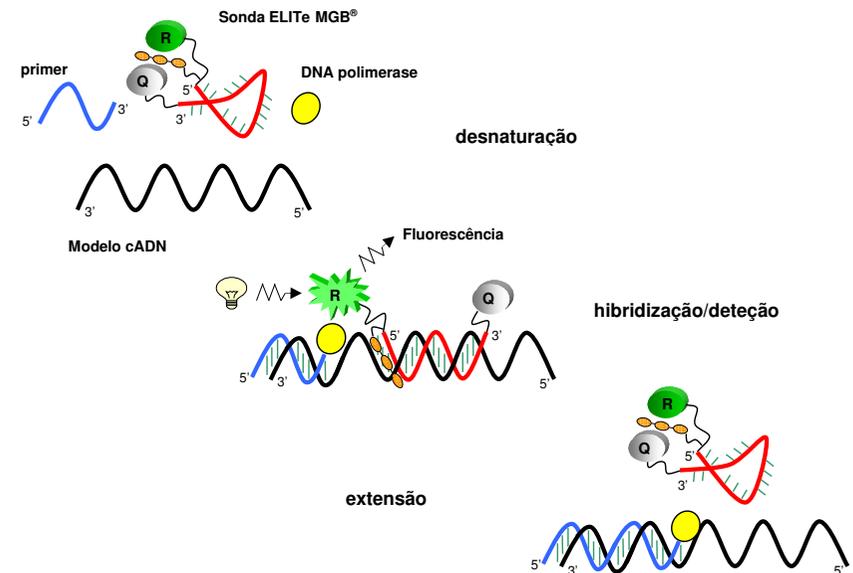
PRINCÍPIOS DO ENSAIO

O ensaio consiste na transcrição reversa e na reação de amplificação em tempo real (método de um passo) realizadas com o **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius**, um sistema automático e integrado para extração, transcrição reversa, amplificação e deteção de ácidos nucleicos e interpretação de resultados.

Começando pelo ARN extraído pelo **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** da amostra a ser testada, o HIV1 PCR Mix completo realiza uma reação de transcrição reversa e amplificação específica do gene da polimerase (região da integrase) do VIH1 e de uma região do ARN genómico do fago MS2 (controlo interno exógeno da extração e inibição).

As sondas específicas do VIH-1 com tecnologia ELITE MGB® e TaqMan™ MGB®, etiquetadas com fluoróforo FAM, são ativadas quando hibridizadas com o produto específico da reação de amplificação do VIH-1. A sonda específica do Controlo Interno com tecnologia ELITE MGB®, etiquetada por fluoróforo AP525, é ativada quando hibridizada com o produto específico da reação de amplificação do Controlo Interno. À medida que o produto específico da reação de amplificação aumenta, a emissão de fluorescência aumenta e é medida e registada pelo instrumento. O processamento dos dados determina a presença e o título do ARN do VIH-1 na amostra.

Na imagem seguinte é resumidamente mostrado o mecanismo de ativação e a emissão de fluorescência da sonda da tecnologia ELITE MGB®.



DESCRIÇÃO DO PRODUTO

O produto **HIV1 ELITE MGB Kit** fornece os seguintes componentes:

- HIV1 ELITE MGB® Mix**

Este componente fornece os seguintes dois subcomponentes:

- **“HIV1 PCR Mix”**, uma mistura otimizada e estabilizada de oligonucleótidos e reagentes para transcrição reversa e amplificação em tempo real, pré-aliquotada em **quatro tubos de teste** (tampa BRANCA). Cada tubo contém **600 µL** de solução, suficiente para **24 testes** (processamento de, pelo menos, 5 amostras por sessão) em associação com o **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius**.

Os primários e a sonda para o VIH-1 (estabilizado pelo grupo MGB®, etiquetado por fluoróforo FAM e extinto por uma fração não fluorescente Eclipse) são específicos do gene de polimerase (região da integrase) do VIH-1. O sinal do VIH1 é detetado pelo Canal 1 (VIH1) do sistema **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius**.

Os primários e a sonda para o Controlo Interno (estabilizado pelo grupo MGB®, etiquetado por fluoróforo AP525 e extinto por uma fração não fluorescente Eclipse) são específicos para uma região do ARN genómico fago **MS2**. O sinal do Controlo Interno é detetado pelo Canal 2 (CI) do sistema **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius**.

A mistura de reação fornece também o tampão, cloreto de magnésio, os trifosfatos nucleotídicos e a enzima de polimerase de ADN com capacidade de arranque a quente.

- **“RT EnzymeMix”**, uma mistura otimizada e estabilizada de enzimas para transcrição reversa, pré-aliquotada em **dois tubos de teste** (tampa com inserção PRETA). Cada tubo contém **20 µL** de solução, suficiente para **48 testes** (processamento de, pelo menos, 5 amostras por sessão) em associação com o **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius**.

Os dois subcomponentes são suficientes para **96 testes em associação com o ELITE InGenius e o ELITE BeGenius**, com recurso, respetivamente, a 20 µL e 0,3 µL para reação.

- HIV1 ELITE Standard**

Este componente fornece os subcomponentes **“HIV1 Q-PCR Standard”**, quatro soluções estabilizadas de ADN de plasmídeo a um **título conhecido**, cada aliquotada **num tubo de testes pronto a usar**. Cada tubo contém **160 µL** de solução, suficiente para **2 sessões**. O ADN de plasmídeo contém uma região do gene de polimerase de VIH-1. A deteção e quantificação do ADN do VIH-1 como resultado da análise pelo componente do **HIV1 ELITE MGB Mix** em associação com o instrumento **ELITE InGenius** e o **ELITE BeGenius**, permite calcular a curva standard do sistema (lote do produto e instrumento) para quantificação de VIH1.

A concentração de ADN de plasmídeo em cópias/mL foi determinada por medição da absorção por espectrofotómetro. Esta concentração de ADN de plasmídeo estava relacionada com a “4.ª Norma internacional da OMS para VIH-1” (NIBSC, RU, código 16/194) por um fator de conversão para permitir o cálculo da concentração em Unidades internacionais/mL (IU/mL).

O componente é suficiente para **2 sessões de análise separadas em associação com o ELITE InGenius e o ELITE BeGenius**, com recurso a 20 µL por reação.

- HIV1 - ELITE Positive Control**

Este componente fornece o subcomponente **“HIV1 Positive Control”**, uma solução estabilizada de ADN de plasmídeo a um **título conhecido**, aliquotada em **dois tubos de teste prontos a usar**. Cada tubo de teste contém **160 µL** de solução, suficiente para **4 sessões**. O ADN de plasmídeo contém uma região do gene de polimerase de VIH-1. A deteção e quantificação do ADN alvo, como resultado da análise com o componente do **HIV1 ELITE MGB Mix** em associação com os instrumentos **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** permite validar o sistema (lote do produto e instrumento) para deteção e quantificação de VIH1.

O componente é suficiente para **8 sessões de análise separadas em associação com o ELITE InGenius e o ELITE BeGenius**, com recurso a 20 µL por reação.

- HIV1 Internal Control**

Este componente fornece o subcomponente **“HIV1 CPE”**, uma solução estabilizada de ARN genómico de MS2, aliquotada em **oito tubos de teste prontos a usar**. Cada tubo contém **160 µL** de solução, suficiente para **12 testes** (processamento de, pelo menos, 2 amostras por sessão). O ARN genómico de MS2 é utilizado como modelo de Controlo Interno exógeno. A deteção do cADN de MS2, como resultado da análise com o componente do **HIV1 ELITE MGB Mix** em associação com os instrumentos **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** permite validar os resultados de amostras negativas para VIH1.

O componente é suficiente para **96 testes em associação com o ELITE InGenius e o ELITE BeGenius**, com recurso a 10 µL para extração.

MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Componente	Subcomponente	Descrição	Quantidade	Classificação dos perigos
HIV1 ELITE MGB Mix ref. RTS600ING	HIV1 PCR Mix ref. RTS600ING	Mistura de reagentes para transcrição reversa e amplificação em tempo real no tubo com tampa BRANCA	4 x 600 µL	-
	RT EnzymeMix ref. RTS003-RT	Enzimas de transcriptase reversa no tubo com tampa com inserção PRETA	2 x 20 µL	-
HIV1 ELITE Standard ref. STD600ING	HIV1 Q-PCR Standard 10 ⁵ ref. STD600ING-5	Solução de plasmídeo no tubo com tampa VERMELHA	1 x 160 µL	-
	HIV1 Q-PCR Standard 10 ⁴ ref. STD600ING-4	Solução de plasmídeo no tubo com tampa AZUL	1 x 160 µL	
	HIV1 Q-PCR Standard 10 ³ ref. STD600ING-3	Solução de plasmídeo no tubo com tampa VERDE	1 x 160 µL	
	HIV1 Q-PCR Standard 10 ² ref. STD600ING-2	Solução de plasmídeo no tubo com tampa AMARELA	1 x 160 µL	
HIV1 - ELITE Positive Control ref. CTR600ING	HIV1 Positive Control ref. CTR600ING	Solução de plasmídeo no tubo com tampa PRETA	2 x 160 µL	-
HIV1 Internal Control ref. CPE600ING	HIV1 CPE ref. CPE600ING	Solução de ADN de plasmídeo e ARN genómico de MS2 no tubo com tampa NEUTRA	8 x 160 µL	-

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Exaustor de fluxo de ar laminar.
- Luvas sem pó de nitrilo descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Microcentrifugadora de bancada (12.000 - 14.000 RPM).
- Micropipetas e pontas estéreis com filtro de aerossol ou pontas de deslocação positiva estéreis (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tubo Sarstedt de 2,0 mL cornado com tampa de rosca (Sarstedt ref.ª 72.694.005).
- Água de qualidade para biologia molecular.

OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

Os reagentes para extração do ARN das amostras a serem analisadas e os consumíveis **não** estão incluídos neste produto.

Para a extração de ácidos nucleicos automática, transcrição reversa, amplificação em tempo real e interpretação dos resultados das amostras a serem analisadas, é necessário o instrumento **ELITE InGenius** (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030) e os seguintes protocolos de ensaio específicos (EG SpA):

- parâmetros para amplificação de calibradores **«HIV1 ELITE STD»**,
 - parâmetros para amplificação de Positive Control **«HIV1 ELITE PC»**,
 - parâmetros para amplificação de Negative Control **«HIV1 ELITE NC»**,
 - parâmetros para amostras de plasma a serem analisadas **«HIV1 ELITE_PL_600_50»**,
- Com o instrumento **ELITE InGenius** são necessários os seguintes produtos genéricos:
- cartuchos de extração **«ELITE InGenius® SP 1000»** (EG SpA, ref.ª INT033SP1000),
 - consumíveis para extração **«ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set»** (EG SpA, ref.ª INT032CS),
 - cartuchos de amplificação **«ELITE InGenius® PCR Cassette»** (EG SpA, ref.ª INT035PCR),
 - pontas **«300 µL Filter Tips Axygen»** (Axygen BioScience Inc., CA, EUA, ref.ª TF-350-L-R-S),
 - caixas **«ELITE InGenius® Waste Box»** (EG SpA, ref.ª F2102-000).

Para a extração de ácido nucleico automática, a amplificação em tempo real e a interpretação dos resultados das amostras a serem analisadas, é necessário o instrumento **ELITE BeGenius** (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT040) e os seguintes protocolos de ensaio específicos (EG SpA):

- parâmetros para amplificação de calibradores «**HIV1 ELITE STD**»,
- parâmetros para amplificação do positive control «**HIV1 ELITE PC**»,
- parâmetros para amplificação do negative control «**HIV1 ELITE NC**»,
- parâmetros para amostras de plasma a serem analisadas «**HIV1 ELITE Be_PL_600_50**»,

Com o instrumento **ELITE BeGenius** são necessários os seguintes produtos genéricos:

- cartuchos de extração «**ELITE InGenius® SP 1000**» (EG SpA, ref.ª INT033SP1000),
- consumíveis para extração «**ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set**» (EG SpA, ref.ª INT032CS),
- cartuchos de amplificação «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (EG SpA, ref.ª INT035PCR),
- pontas «**1000 µL Filter Tips Tecan**» (Tecan, Switzerland, ref. 30180118),
- caixas «**ELITE InGenius® Waste Box**» (EG SpA, ref.ª F2102-000).

AVISOS E PRECAUÇÕES

Este produto foi concebido para utilização exclusiva *in-vitro*.

Avisos e precauções gerais

Manuseie e elimine todas as amostras biológicas como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos. Evite o contacto direto com as amostras biológicas. Evite salpicos ou vaporizações. Os materiais que entrarem em contacto com as amostras biológicas devem ser tratados durante, pelo menos, 30 minutos com 3% de hipoclorito de sódio ou em autoclave durante uma hora a 121 °C antes da eliminação.

Manuseie e elimine todos os reagentes e todos os materiais usados na realização do ensaio como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos. Evite o contacto direto com os reagentes. Evite salpicos ou vaporizações. Os resíduos devem ser manuseados e eliminados em conformidade com as normas de segurança adequadas. Os materiais combustíveis descartáveis devem ser incinerados. Os desperdícios líquidos que contenham ácidos ou bases devem ser neutralizados antes da eliminação.

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

Nunca deve pipetar soluções com a boca.

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

Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.

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

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

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

Não utilize o produto após a data de validade indicada.

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

Não use reagentes de lotes diferentes.

Não use reagentes de outros fabricantes.

Avisos e precauções para biologia molecular

Os procedimentos de biologia molecular requerem colaboradores qualificados e com formação, para evitar o risco de resultados incorretos, especialmente devido à degradação de ácidos nucleicos contidos nas amostras ou à contaminação da amostra por produtos de amplificação.

São necessárias batas de laboratório, luvas e ferramentas para preparação da sessão de trabalho.

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

Os reagentes devem ser manuseados sob uma câmara de fluxo laminar. Os reagentes necessários para a sessão devem ser preparados de forma a que possam ser usados numa única dia. As pipetas usadas no manuseamento dos reagentes devem ser usadas exclusivamente para este fim. As pipetas

devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. As pontas usadas devem ser esterilizadas, livres de DNases e RNases e livres de ADN e ARN.

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

As Cassetes PCR devem ser manuseadas de modo a evitar a difusão do produto de amplificação para o ambiente e a contaminação da amostra e do reagente.

Avisos e precauções específicos para os componentes

• HIV1 ELITE MGB Mix

○ **HIV1 PCR Mix** deve ser conservado num local escuro a uma temperatura inferior a -20 °C.

○ **HIV1 PCR Mix** deve ser utilizado no prazo de um mês após a primeira abertura do tubo.

○ **HIV1 PCR Mix** pode ser congelado e descongelado num máximo de **cinco sessões**: quaisquer ciclos de congelação/descongelação adicionais podem reduzir o desempenho do produto.

○ **RT EnzymeMix** deve ser conservado a uma temperatura inferior a -20 °C.

○ **RT EnzymeMix** deve ser utilizado no prazo de um mês após a primeira abertura do tubo.

○ **RT EnzymeMix** não deve ser exposto a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos durante cada utilização.

○ **RT EnzymeMix** não deve ser exposto a temperaturas superiores a -20 °C durante **mais de 10 minutos**: utilizações adicionais podem causar um menor desempenho do produto.

• HIV1 ELITE Standard

○ **HIV1 Q-PCR Standard** deve ser conservado a uma temperatura inferior a -20 °C.

○ **HIV1 Q-PCR Standard** deve ser utilizado no prazo de um mês após a primeira abertura do tubo.

○ **HIV1 Q-PCR Standard** pode ser congelado e descongelado um máximo de **duas vezes**: quaisquer ciclos de congelação/descongelação adicionais podem causar uma perda no título.

○ **HIV1 Q-PCR Standard** pode ser mantido na área de extração do **ELITE InGenius** ou no **ELITE BeGenius** em até **duas sessões de trabalho independentes de duas horas cada** (modo de execução "PCR Only").

• HIV1 - ELITE Positive Control

○ **HIV1 Positive Control** deve ser conservado a uma temperatura inferior a -20 °C.

○ **HIV1 Positive Control** deve ser utilizado no prazo de um mês após a primeira abertura do tubo.

○ **HIV1 Positive Control** pode ser congelado e descongelado um máximo de **quatro vezes**: quaisquer ciclos de congelação/descongelação adicionais podem reduzir o desempenho do produto.

○ **HIV1 Positive Control** pode ser mantido na área de extração dos instrumentos **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** em até **quatro sessões de trabalho independentes de três horas cada** (modo de execução "Extraction+PCR Only").

• HIV1 Internal Control

○ **HIV1 CPE** deve ser conservado a uma temperatura inferior a -20 °C.

○ **HIV1 CPE** deve ser utilizado no prazo de um mês após a primeira abertura do tubo.

○ **HIV1 CPE** pode ser congelado e descongelado um máximo de **doze vezes**: quaisquer ciclos de congelação/descongelação adicionais podem reduzir o desempenho do produto.

○ **HIV1 CPE** pode ser integrado nos instrumentos **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** em até **seis sessões de trabalho independentes de três horas cada** (modo de execução "Extraction + PCR").

Amostras

Este produto deve ser utilizado com as seguintes amostras clínicas:

Plasma colhido em EDTA ou ACD

As amostras de plasma para extração de ácido nucleico devem ser colhidas em EDTA ou ACD, identificadas de acordo com as diretrizes laboratoriais e transportadas e armazenadas à temperatura ambiente (+18/+25 °C) durante um período máximo de 24 horas ou a +2/+8 °C durante um período máximo de 3 dias. Caso contrário, devem ser congeladas e armazenadas a -20 °C durante um período máximo de 1 mês ou a -70 °C durante 6 meses.

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

Nota: A extração de ARN de plasma colhido em EDTA ou ACD é realizada com o sistema **ELiTe InGenius** e com o **Software ELiTe InGenius** versão 1.3 (ou versões equivalentes mais recentes), utilizando o Protocolo de ensaio **HIV1 ELiTe_PL_600_50**. Este protocolo processa 600 µL de amostra, a começar a partir do tubo secundário, adiciona 10 µL por extração do **HIV1 CPE** (Controlo interno) e elui os ácidos nucleicos em 50 µL. O tubo primário não pode ser usado em associação com o Protocolo de ensaio.

Os ácidos nucleicos purificados podem ser guardados a -20 °C durante um mês.

Outras amostras

Neste momento não existem dados disponíveis relativos ao desempenho do produto com outras amostras clínicas, como sangue total, soro ou LCR.

Substâncias interferentes

Os dados disponíveis relativos à inibição causada por fármacos e outras substâncias são comunicados no parágrafo "Potenciais substâncias interferentes" do capítulo "Características de desempenho".

Não use Plasma colhido em heparina para evitar a inibição da reação de amplificação e resultados inválidos frequentes.

Controlos de amplificação

Antes de analisar qualquer amostra, é absolutamente obrigatório criar e aprovar a curva de calibração e os controlos de amplificação para cada lote do reagente de amplificação:

- como conjunto calibrador, use os quatro níveis de concentração do componente **HIV1 ELiTe Standard** fornecido com este kit, em associação com o Protocolo do ensaio **HIV1 ELiTe STD**,
- como Positive Control da amplificação, use o componente **HIV1 - ELiTe Positive Control** fornecido com este kit, em associação com o Protocolo do ensaio **HIV1 ELiTe_PC**,
- como Negative Control da amplificação, use água de qualidade para biologia molecular (não fornecida com este kit) em associação com o Protocolo do ensaio **HIV1 ELiTe_NC**.

Nota: O sistema **ELiTe InGenius** requer resultados aprovados e válidos da curva de calibração e dos controlos da amplificação para cada lote de reagente de amplificação guardado na respetiva base de dados. As curvas da calibração, aprovadas e guardadas na base de dados, irão expirar após **60 dias**. Na data de fim da validade será necessário fazer uma nova execução dos Q-PCR Standards em associação com o lote do reagente de amplificação.

Os resultados do controlo da amplificação, aprovados e guardados na base de dados, irão expirar após **15 dias**. Na data de fim da validade será necessário fazer uma nova execução dos Positive e Negative Controls em associação com o lote do reagente de amplificação.

Para além disso, os calibradores e os controlos da amplificação devem ser novamente executados quando:

- for iniciado um novo lote de reagentes,
- os resultados da análise de Controlo da qualidade (ver o parágrafo seguinte) se encontrarem fora da especificação,
- for realizado qualquer serviço de manutenção significativo no instrumento **ELiTe InGenius**.

Controlos da qualidade

É recomendada a validação planeada do procedimento de extração e amplificação. Podem ser usadas amostras testadas ou material de referência certificado. Os controlos externos devem ser usados em conformidade com as organizações de acreditação locais, estatais e federais, consoante aplicável.

O procedimento para utilização do **HIV1 ELiTe MGB Kit** com o sistema **ELiTe InGenius** consiste em três passos:

- Verificação da prontidão do sistema,
- Preparação da sessão,
- Revisão e exportação de resultados.

Verificação da prontidão do sistema

Antes de iniciar a sessão, e através da consulta da documentação do instrumento, é necessário:

- ligar o **ELiTe InGenius** e selecionar o modo de início de sessão "**CLOSED**" (Fechado),
- certificar-se de que os Calibradores (**HIV1 Q-PCR Standard**) foram executados, aprovados e não estão expirados (Estado) em associação com o lote do reagente de amplificação a ser usado. Se não existirem Calibradores aprovados ou válidos, execute-os como descrito nos parágrafos seguintes,
- certificar-se de que os controlos da amplificação (**HIV1 Positive Control**, **HIV1 Negative Control**) foram executados, aprovados e não estão expirados (Estado) em associação com o lote do reagente de amplificação a ser usado. Se não existirem controlos da amplificação aprovados ou válidos, execute-os como descrito nos parágrafos seguintes,
- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Protocolos de ensaio fornecidos pela ELiTechGroup S.p.A. Estes protocolos IVD foram especificamente validados com os kits **ELiTe MGB** e o instrumento **ELiTe InGenius** e a matriz citada.

Os Protocolos de ensaio disponíveis para teste da amostra com o produto **HIV1 ELiTe MGB Kit** estão descritos na tabela seguinte:

Protocolo de ensaio para o HIV1 ELiTe MGB Kit e o ELiTe InGenius			
Nome	Matriz	Relatório	Características
HIV1 ELiTe_PL_600_50	Plasma	Positivo/ cópias/mL/ IU/mL/ Negativo	Volume de entrada da extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1,7 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL

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

Preparação da sessão

O produto **HIV1 ELiTe MGB Kit** pode ser utilizado com o sistema **ELiTe InGenius** para realizar:

- Execução integrada (Extract + PCR) (Extração + PCR),
- Execução de amplificação (PCR Only) (apenas PCR),
- Execução da calibração (PCR Only) (apenas PCR),
- Execução de amplificação para Controlo Positivo e Controlo Negativo (PCR Only) (apenas PCR).

Todos os parâmetros necessários para a sessão estão incluídos no Protocolo de ensaio disponível no instrumento e são automaticamente recuperados quando o Protocolo de ensaio é selecionado.

Nota: O sistema **ELiTe InGenius** pode ser ligado ao "Laboratory Information Server" (servidor de informação da localização - LIS) que permite carregar a informação da sessão de trabalho. Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

Antes de iniciar a sessão, é obrigatório fazer o seguinte:

- Descongele durante 30 minutos à temperatura ambiente (~+25 °C) os tubos de teste **HIV1 PCR Mix** (tampa BRANCA) necessários para a sessão, lembrando-se que o conteúdo de cada tubo de teste é suficiente **24 testes**. Misture por meio de vórtice durante 10 segundos três vezes e centrifugue os tubos durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo,

Nota: Descongele o **HIV1 PCR Mix** num local escuro, pois este reagente é sensível à luz.

- Remova os tubos **RT EnzymeMix** (tampa com inserção PRETA) necessários para a sessão, lembrando-se que o conteúdo de cada tubo de teste é suficiente para preparar **48 testes**. Agite suavemente os tubos, centrifugue durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo.

Nota: A **RT EnzymeMix** não deve ser exposta a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos.

- Prepare um tubo de 2 mL com tampa de rosca (Sarstedt Ref. 72.694.005, não incluído no kit) para a **mistura de reação completa** e marque-o de forma reconhecível com um marcador permanente.
- Calcule os volumes dos dois subcomponentes que são necessários para a preparação da **mistura de reação completa** com base no número de amostras a serem analisadas, tal como descrito na tabela seguinte.

Nota: Para calcular os volumes dos dois subcomponentes a serem usados para a preparação da **mistura de reação completa**, é necessário definir o número de amostras (N) a serem testadas na sessão e seguir a tabela seguinte.

Número de amostras (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

- Prepare a **mistura de reação completa** adicionando ao tubo de 2 mL dedicado os volumes calculados dos dois componentes.
- Misture por **meio de vórtice a baixa velocidade** durante 10 segundos três vezes, centrifugue os tubos durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo.

Nota: A **mistura de reação completa** deve ser usada em **7 horas** se for mantida no bloco refrigerado. A mistura de reação completa **não pode** ser guardada para reutilização.

Nota: A **mistura da reação completa** é sensível à luz, não a exponha à luz direta.

Estão descritos nos parágrafos seguintes os passos principais para a preparação dos três tipos de execução.

A. Execução integrada

Para configurar uma execução integrada com extração e amplificação da amostra, execute os passos seguintes de acordo com a GUI:

- Descongele à temperatura ambiente (~+25 °C) os tubos de teste contendo as amostras a serem analisadas e manuseie de acordo com as diretrizes laboratoriais e de acordo com o parágrafo "Amostras e controles".
Lembre-se de que são necessários 600 µL de amostra para a análise.
- Descongele os tubos **HIV1 CPE** para a sessão à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para 12 extrações. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
- Selecione "Perform Run" a partir do ecrã "Home".
- Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" é de 1000 µL (mesmo que seja usado 600 µL da amostra) e que o "Extracted Elute Volume" é de 50 µL.
- Para cada Rastreo de interesse preencha a "SampleID" (SID) digitando ou digitalizando o código de barras da amostra.
- Selecione o Protocolo de ensaio a ser usado na coluna "Assay" (por ex., HIV1 ELITE_PL_600_50).
- Certifique-se de que o "Protocol" apresentado é: "Extract + PCR".
- Selecione a posição de carregamento da amostra "Extraction Tube" na coluna "Sample Position". Selecione "Next" para continuar a preparação.
Para a análise, 600 µL da amostra devem ser transferidos para o "Extraction Tube". Qualquer volume em excesso será deixado no "Extraction Tube" pelo **ELITE InGenius**.
- Carregue a **mistura de reação completa** e o **HIV1 CPE** no "Inventory Block" selecionado pela seguinte instrução da GUI e preencha o número do lote e a data de validade da **HIV1 PCR Mix** e do **HIV1 CPE**. Clique no botão "Next" para continuar a preparação.

- Carregue e verifique os Suportes de pontas na "Inventory Area" (Área de inventário) selecionada seguindo as instruções na GUI. Clique no botão "Next" para continuar a preparação.

- Carregue as **PCR Cassettes**, os cartuchos de extração **ELITE InGenius SP 1000**, todos os consumíveis necessários e as amostras a serem extraídas, seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar.

- Feche a porta do instrumento.

- Pressione "Start" para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o sistema **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução a restante amostra extraída no "Elution Tube" deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 °C durante um mês. Evite derramar a Amostra extraída.

Nota: No final da execução, as **PCR Cassettes** com os produtos de amplificação, os cartuchos de extração e os consumíveis devem ser removidas do instrumento e eliminadas sem produzirem contaminações ambientais. Evite derramar os produtos da amplificação.

Nota: A **mistura de reação completa** pode ser mantida no bloco refrigerado até 2 sessões de trabalho de 3 horas cada e durante o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão de trabalho (7 horas no total). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

B. Execução da amplificação

Para preparar a execução de amplificação a iniciar a partir de ARN extraído, realize os passos seguintes de acordo com a GUI:

- Descongele à temperatura ambiente (~+25 °C) os tubos de teste que contêm as amostras de ácido nucleico extraído a serem analisadas. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
- Selecione "Perform Run" a partir do ecrã "Home".
- Mesmo que não seja efetuada qualquer extração, certifique-se de que o "Extraction Input Volume" é de 1000 µL (mesmo que tenham sido utilizados 600 µL da amostra) e que o "Extracted Elute Volume" é de 50 µL.
- Para cada Rastreo de interesse preencha a SID digitando ou digitalizando o código de barras da amostra.
- Selecione o Protocolo de ensaio a ser usado na coluna "Assay" (por ex., HIV1 ELITE_PL_600_50).
- Selecione "PCR Only" (apenas PCR) na coluna "Protocol".
- Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" é "Elution Tube (bottom row)". Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Carregue a **mistura de reação completa** no "Inventory Block" selecionado pela seguinte instrução da GUI e preencha o número do lote e a data de validade do **HIV1 PCR Mix**. Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Carregue e verifique os Suportes de pontas na "Inventory Area" (Área de inventário) selecionada seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Carregue as **PCR Cassettes** e as amostras de ácido nucleico extraídas seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar.
- Feche a porta do instrumento.
- Pressione "Start" para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o sistema **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução a restante amostra extraída no "Elution tube" deve ser removida do instrumento, tapada e guardada a -20 °C durante um mês. Evite derramar a Amostra extraída.

Nota: No final da execução, as **PCR Cassettes** com os produtos de amplificação e outros consumíveis devem ser removidas do instrumento e eliminadas sem produzirem contaminações ambientais. Evite derramar os produtos da amplificação.

Nota: A **mistura de reação completa** pode ser mantida no bloco refrigerado até 2 sessões de trabalho de 3 horas cada e durante o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão de trabalho (7 horas no total). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

C. Execução de calibração

Para configurar a execução de Calibração com Q-PCR Standards, execute os passos seguintes de acordo com a GUI:

1. Descongele os tubos **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 temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para preparar 2 reações. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
2. Selecione "Perform Run" a partir do ecrã "Home".
3. Mesmo que não seja efetuada qualquer extração, certifique-se de que o "Extraction Input Volume" é de 1000 µL (mesmo que sejam utilizados 600 µL da amostra) e que o "Extracted Elute Volume" é de 50 µL.
4. No Rastreo de interesse, selecione o protocolo de ensaio "HIV1 ELITE STD" na coluna "Assay" e preencha o número do lote e a data de validade do **HIV1 Q-PCR Standard**. Selecione "Next" para continuar a preparação.
5. Carregue a **mistura de reação completa** no "Inventory Block" selecionado pela seguinte instrução da GUI e preencha o número do lote e a data de validade do **HIV1 PCR Mix**. Selecione "Next" para continuar a preparação.
6. Carregue e verifique os Suportes de pontas na "Inventory Area" (Área de inventário) selecionada seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
7. Carregue as **PCR Cassettes**, os tubos **HIV1 Q-PCR Standard** seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar.
8. Feche a porta do instrumento.
9. Pressione "Start" para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o sistema **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução, os restantes **HIV1 Q – PCR Standards** devem ser removidos do instrumento, tapados e guardados a -20 °C.

Nota: Os **HIV1 Q-PCR Standards** podem ser usados para 2 sessões de trabalho independentes de 2 horas cada.

Nota: No final da execução, as **PCR Cassettes** com os produtos de reação e outros consumíveis devem ser removidas do instrumento e eliminadas sem produzirem contaminações ambientais. Evite derramar os produtos da amplificação.

Nota: A **mistura de reação completa** pode ser mantida no bloco refrigerado até 2 sessões de trabalho de 3 horas cada e durante o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão de trabalho (7 horas no total). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

D. Execução de amplificação para Controlo Positivo e Controlo Negativo

Para preparar a execução de amplificação para o Positive Control e Negative Control, realize os passos seguintes em conformidade com a GUI:

1. Descongele os tubos de **HIV1 Positive Control** à temperatura ambiente (~+25°C) durante 30 minutos para a sessão. Cada tubo é suficiente para preparar 4 reações. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
2. Como **Negative Control**, transfira pelo menos 50 µL de água de qualidade para biologia molecular para um "Elution tube", fornecido com o **ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**.
3. Selecione "Perform Run" a partir do ecrã "Home screen".
4. Mesmo que não seja efetuada qualquer extração, certifique-se de que o "Extraction Input Volume" é de 1000 µL (mesmo que sejam utilizados 600 µL da amostra) e que o "Extracted Elute Volume" é de 50 µL.
5. No Rastreo de interesse, selecione o Protocolo de ensaio a ser usado na coluna "Assay".
6. Para o Positive Control, selecione o Protocolo de ensaio "HIV1 ELITE_PC" na coluna "Assay" e preencha o número do lote e a data de validade do **HIV1 Positive Control**.
7. Para o Negative Control, selecione o Protocolo de ensaio "HIV1 ELITE_NC" na coluna "Assay" e preencha o número do lote e a data de validade da água de qualidade para biologia molecular. Selecione "Next" para continuar a preparação.

8. Carregue a **mistura de reação completa** no "Inventory Block" selecionado pela seguinte instrução da GUI e preencha o número do lote e a data de validade do **HIV1 PCR Mix**. Selecione "Next" para continuar a preparação.
9. Carregue e verifique os Suportes de pontas na "Inventory Area" (Área de inventário) selecionada seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
10. Carregue as **PCR Cassettes**, o tubo **HIV1 Positive Control** e o tubo **Negative Control** seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar.
11. Feche a porta do instrumento.
12. Pressione "Start" para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o sistema **ELITE InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução o restante **HIV1 Positive Control** deve ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C. O restante **Negative Control** deve ser eliminado.

Nota: O **HIV1 Positive Control** pode ser usado para 4 sessões de trabalho independentes de 3 horas cada.

Nota: No final da execução as **PCR Cassettes** com os produtos de reação e outros consumíveis devem ser removidos do instrumento e eliminados sem produzir contaminações ambientais. Evite derramar os produtos da amplificação.

Nota: A **mistura de reação completa** pode ser mantida no bloco refrigerado até 2 sessões de trabalho de 3 horas cada e durante o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão de trabalho (7 horas no total). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

Revisão e aprovação de resultados

No final da execução, é automaticamente apresentado o ecrã "Results Display". Neste ecrã são mostrados os resultados da amostra/Standard/Controlo e a informação relativa à execução. A partir deste ecrã é possível aprovar o resultado, imprimir ou guardar os relatórios ("Sample Report" ou "Track Report"). Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

Nota: O sistema **ELITE InGenius** pode ser ligado ao "Laboratory Information Server" (Servidor de informação do laboratório - LIS) através do qual é possível enviar os resultados da sessão de trabalho para o centro de dados do laboratório. Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

O sistema **ELITE InGenius** gera os resultados com o produto **HIV1 ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

- A. Validação da Curva de calibração,
- B. Validação dos resultados do Controlo Positivo e Controlo Negativo,
- C. Validação dos resultados da amostra,
- D. Elaboração do relatório do resultado da amostra.

A. Validação da Curva de calibração

Os sinais de fluorescência emitidos pela sonda para VIH-1 (Canal "VIH-1") nas reações de amplificação do Calibrador são analisados automaticamente e interpretados pelo software do instrumento com os parâmetros incluídos no protocolo de ensaio "**HIV1 ELITE STD**".

A Curva de calibração, específica para o lote de reagente de amplificação, é guardada na base de dados (Calibração). Pode ser visualizada e aprovada por pessoal qualificado como o "Administrator" ou "Analyst", seguindo as instruções na GUI.

A Curva de calibração, específica para o lote de reagente de amplificação, irá expirar **após 60 dias**.

Nota: se a Curva de calibração não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem "Falhou" no ecrã "Calibração" e não é possível aprovar a mesma. Têm de ser repetidas as reações de amplificação do Calibrador.

Nota: se a curva de calibração for executada em conjunto com amostras e o respetivo resultado for inválido, toda a sessão é inválida. Neste caso, também deve ser repetida a amplificação de todas as amostras.

B. Validação dos resultados do Controlo Positivo e Controlo Negativo da amplificação

Os sinais de fluorescência emitidos pela sonda para VIH-1 (Canal "VIH-1") na reação de amplificação de Positive Control e Negative Control são analisados automaticamente e interpretados pelo software do instrumento com os parâmetros incluídos nos Protocolo de ensaio "**HIV1 ELITE_PC**" e "**HIV1 ELITE_NC**".

Os resultados da amplificação do Positive Control e Negative Control, específicos para o lote de reagente de amplificação usado, são registados na base de dados (Controlos). Podem ser visualizados e aprovados por pessoal qualificado como o "Administrator" ou "Analyst", seguindo as instruções na GUI.

Os resultados da amplificação de Positive Control e Negative Control, específicos para o lote de reagente de amplificação, irão expirar **após 15 dias**.

Os resultados das execuções de amplificação de Positive Control e Negative Control são usados pelo software do instrumento para preparar os "Control Charts". São necessários quatro resultados de Positive Control e Negative Control, de quatro execuções diferentes, para preparar o "Control Chart". Após isso, os resultados do Positive Control e Negative Control são usados para a monitorização dos desempenhos do passo de amplificação. Consulte o manual do utilizador do instrumento para obter mais informações.

Nota: se o resultado do Positive Control ou Negative Control da amplificação não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem "Failed" no ecrã "Controls" e não é possível aprovar o mesmo. Neste caso, foi repetida a reação do Positive Control ou Negative Control da amplificação.

Nota: se o Positive Control ou o Negative Control for executado em conjunto com amostras a serem testadas e o respetivo resultado for inválido, as amostras podem ser aprovadas mas os resultados não são válidos. Neste caso, também deve ser repetida a amplificação de todas as amostras.

C. Validação dos resultados da amostra

Os sinais de fluorescência emitidos pela sonda para VIH-1 (Canal "VIH-1") e pela sonda de controlo interno (Canal "CI") nas reações de amplificação da amostra são analisados automaticamente e interpretados pelo software do instrumento com os parâmetros incluídos no Protocolo de ensaio "HIV1 ELITe_PL_600_50".

Os resultados são mostrados nos relatórios gerados pelo instrumento ("Exibição dos resultados").

A execução da amostra pode ser aprovada quando forem cumpridas as três condições reportadas na tabela abaixo.

1) Curva de calibração	Estado
HIV1 Q-PCR Standards	APROVADO
2) Positive Control	Estado
HIV1 Positive Control	APROVADO
3) Negative Control	Estado
HIV1 Negative Control	APROVADO

Para cada amostra, o resultado do ensaio é automaticamente interpretado pelo sistema como estabelecido pelo algoritmo do **software ELITe InGenius** e os parâmetros do Protocolo do ensaio.

Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado.

Resultado da execução da amostra	Interpretação
VIH-1: ARN detetado, quantidade igual a "XXX" cópias/mL ou IU/mL.	Foi detetado ARN de VIH-1 na amostra dentro do intervalo de medição do ensaio, quantidade como mostrado.
VIH-1: ARN detetado, quantidade inferior a "LLOQ" cópias/mL ou IU/mL.	Foi detetado ARN de VIH-1 na amostra abaixo do limite inferior de quantificação (LLOQ) do ensaio.
VIH-1: ARN detetado, quantidade além de "ULOQ" cópias/mL ou IU/mL.	Foi detetado ARN de VIH-1 na amostra além do limite superior de quantificação (ULOQ) do ensaio.
VIH-1: ARN não detetado ou inferior a "LoD" cópias/mL ou IU/mL.	Não foi detetado ARN de VIH-1 na amostra. A amostra é negativa para ARN de VIH-1 ou a sua concentração está abaixo do Limite de deteção (LoD) do ensaio.
Inválido - Voltar a testar a amostra.	Resultado do ensaio não válido devido a falha do Controlo Interno (extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

As amostras reportadas como "Invalid - Retest Sample" (Inválido - Voltar a testar a amostra) pelo **software ELITe InGenius** não são adequadas para interpretação dos resultados. Neste caso, o ARN do Controlo Interno não foi detetado eficientemente devido a problemas no passo de transcrição reversa e de amplificação ou extração (degradação ou perda do ARN durante a extração ou transferência de inibidores na eluição), que pode causar resultados incorretos.

Quando o volume da eluição é suficiente, a amostra extraída pode ser novamente testada, tal como está ou diluída, através de uma execução da amplificação no modo "PCR Only" (apenas PCR). No caso de um segundo resultado inválido, a amostra deve ser novamente testada começando a partir da extração de uma nova alíquota utilizando o modo "Extract + PCR".

As amostras reportadas como "ARN de VIH-1 não detetado ou inferior ao LoD" são adequadas para análise mas não foi possível detetar ARN de VIH-1. Neste caso não pode excluir-se que o ARN de VIH-1 está presente a uma concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver "Características de desempenho").

As amostras positivas de ARN de VIH-1 a uma concentração inferior ao LoD, quando forem detetadas pelo ensaio, são comunicadas como "VIH-1: ARN detetado, quantidade inferior ao LLOQ" (consulte "Características de desempenho").

Nota: Os resultados obtidos com este ensaio devem ser interpretados tendo em conta todos os dados clínicos e os outros resultados de testes laboratoriais relativos ao doente.

Os resultados da execução da amostra são guardados na base de dados e, se válidos, podem ser aprovados (Result Display) por pessoal qualificado como "Administrator" ou "Analyst", seguindo as instruções na GUI. A partir da janela "Result Display" é possível imprimir e guardar os resultados da execução da amostra como "Sample Report" e "Track Report".

D. Elaboração do relatório do resultado da amostra

Os resultados da amostra são guardados na base de dados e podem ser visualizados ou exportados como "Sample Report" e "Track Report".

O "Sample Report" apresenta os detalhes de uma sessão de trabalho ordenada pela amostra selecionada (SID).

O "Track Report" apresenta os detalhes de uma sessão de trabalho pelo Rastreo selecionado.

O "Sample Report" e o "Track Report" podem ser impressos e assinados por pessoal autorizado.

Amostras

Este produto deve ser utilizado com as seguintes amostras clínicas:

Plasma colhido em EDTA ou ACD

As amostras de plasma para extração de ácido nucleico devem ser colhidas em EDTA ou ACD, identificadas de acordo com as diretrizes laboratoriais e transportadas e armazenadas à temperatura ambiente (+18 / ~+25 °C) durante um período máximo de três dias ou a +2/+8 °C durante um período máximo de cinco dias. Caso contrário, devem ser congeladas e armazenadas a ~-20 °C durante um período máximo de um mês ou a ~-70 °C durante 6 meses.

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

Nota: A extração de ARN de plasma colhido em EDTA ou ACD é realizada com o sistema **ELITE BeGenius** e com o **Software ELITE BeGenius** versão 2.1.0 (ou versões equivalentes mais recentes), utilizando o Protocolo de ensaio **HIV1 ELITE Be_PL_600_50**. Este protocolo processa 600 µL de amostra, adiciona 10 µL por extração do **HIV1 CPE** (Internal Control) e elui os ácidos nucleicos em 50 µL.

Os ácidos nucleicos purificados podem ser guardados a ~-20 °C durante um mês.

Outras amostras

Neste momento não existem dados disponíveis relativos ao desempenho do produto com outras amostras clínicas, como sangue total, soro ou LCR.

Substâncias interferentes

Os dados disponíveis relativos à inibição causada por fármacos e outras substâncias são comunicados no parágrafo "Potenciais substâncias interferentes" do capítulo "Características de desempenho".

Não use Plasma colhido em heparina para evitar a inibição da reação de amplificação e resultados inválidos frequentes.

Controlos de amplificação

Antes de analisar qualquer amostra, é obrigatório criar e aprovar a curva de calibração e os controlos de amplificação para cada lote do reagente de amplificação:

- como conjunto calibrador, use os quatro níveis de concentração do produto **HIV1 ELITE Standard** fornecido com este kit, em associação com o protocolo do ensaio **HIV1 ELITE Be_STD**,
- como Positive Control da amplificação, use o produto **HIV1 - ELITE Positive Control** fornecido com este kit, em associação com o protocolo do ensaio **HIV1 ELITE Be_PC**,
- como Negative Control da amplificação, use água de qualidade para biologia molecular (não fornecida com este kit) em associação com o Protocolo do ensaio **HIV1 ELITE Be_NC**.

Nota: O sistema **ELITE BeGenius** requer resultados aprovados e válidos da curva de calibração e dos controlos da amplificação para cada lote de reagente de amplificação guardado na respetiva base de dados. As curvas da calibração, aprovadas e guardadas na base de dados, irão expirar após **60 dias**. Na data de fim da validade será necessário fazer uma nova execução dos Q-PCR Standards em associação com o lote do reagente de amplificação.

Os resultados do controlo da amplificação, aprovados e guardados na base de dados, irão expirar após **15 dias**. Na data de fim da validade será necessário fazer uma nova execução dos Positive e Negative Controls em associação com o lote do reagente de amplificação.

- Para além disso, os calibradores e os controlos da amplificação devem ser novamente executados quando:
- for iniciado um novo lote de reagentes,
 - os resultados da análise de controlo da qualidade (ver o parágrafo seguinte) se encontrarem fora da especificação,
 - for realizado qualquer serviço de manutenção significativo no instrumento **ELITE BeGenius**.

Controlos da qualidade

É recomendada a validação planeada do procedimento de extração e amplificação. Podem ser usadas amostras testadas ou material de referência certificado. Os controlos externos devem ser usados em conformidade com as organizações de acreditação locais, estatais e federais, consoante aplicável.

O procedimento para utilização do **HIV1 ELITE MGB Kit** com o sistema **ELITE BeGenius** consiste em três passos:

- Verificação da prontidão do sistema,
- Preparação da sessão,
- Revisão e exportação de resultados.

Verificação da prontidão do sistema

Antes de iniciar a sessão, e através da consulta da documentação do instrumento, é necessário:

- ligar o **ELITE BeGenius** e selecionar o modo de início de sessão "**CLOSED**" (Fechado),
- certificar-se de que os Calibradores (**HIV1 Q-PCR Standard**) foram executados, aprovados e não estão expirados (Estado) em associação com o lote do reagente de amplificação a ser usado. Se não existirem Calibradores aprovados ou válidos, execute-os como descrito nos parágrafos seguintes,
- certificar-se de que os controlos da amplificação (**HIV1 Positive Control**, **HIV1 Negative Control**) foram executados, aprovados e não estão expirados (Estado) em associação com o lote do reagente de amplificação a ser usado. Se não existirem controlos da amplificação aprovados ou válidos, execute-os como descrito nos parágrafos seguintes,
- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os Protocolos de ensaio fornecidos pela ELITechGroup S.p.A. Estes protocolos IVD foram especificamente validados com os kits ELITE MGB e o instrumento ELITE BeGenius e a matriz citada.
- Os Protocolos de ensaio disponíveis para teste da amostra com o produto **HIV1 ELITE MGB Kit** estão descritos na tabela seguinte:

Protocolo de ensaio para o HIV1 ELITE MGB Kit e o ELITE InGenius			
Nome	Matriz	Relatório	Características
HIV1 ELITE_Be_PL_600_50	Plasma	Positivo / IU/mL / cópias/mL / Negativo	Volume de entrada da extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Fator de diluição: 1,7 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL

- Se o Protocolo de ensaio que precisa não estiver carregado no sistema, contacte o Serviço de Apoio ao cliente ELITechGroup da sua localidade.
- **Preparação da sessão**
- O produto **HIV1 ELITE MGB Kit** pode ser utilizado com o sistema **ELITE BeGenius** para realizar:
 - A. Execução integrada (Extract + PCR) (Extração + PCR),
 - B. Execução de amplificação (PCR Only) (apenas PCR),
 - C. Execução da calibração (PCR Only) (apenas PCR),
 - D. Execução de amplificação para Controlo Positivo e Controlo Negativo (PCR Only) (apenas PCR).

Todos os parâmetros necessários para a sessão estão incluídos no Protocolo de ensaio disponível no instrumento e são automaticamente recuperados quando o Protocolo de ensaio é selecionado.

Nota: O sistema **ELITE BeGenius** pode ser ligado ao "Location Information Server" (Servidor de informação da localização - LIS) através do qual é possível carregar a informação da sessão de trabalho. Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

Antes de iniciar a sessão, é obrigatório fazer o seguinte:

1. Descongele durante 30 minutos à temperatura ambiente (~+25 °C) os tubos de teste **HIV1 PCR Mix** (tampa BRANCA) necessários para a sessão, lembrando-se que o conteúdo de cada tubo de teste é suficiente **24 testes**. Misture por meio de vórtice durante 10 segundos três vezes e centrifugue os tubos durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo,

Nota: Descongele o **HIV1 PCR Mix** num local escuro, pois este reagente é sensível à luz.

- Remova os tubos **RT EnzymeMix** (tampa com inserção PRETA) necessários para a sessão, lembrando-se que o conteúdo de cada tubo de teste é suficiente para preparar **48 testes**. Agite suavemente os tubos, centrifugue durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo.

Nota: A **RT EnzymeMix** não deve ser exposta a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos.

- Prepare um tubo de 2 mL com tampa de rosca (Sarstedt Ref. 72.694.005, não incluído no kit) para a **mistura de reação completa** e marque-o de forma reconhecível com um marcador permanente.
- Calcule os volumes dos dois subcomponentes que são necessários para a preparação da **mistura de reação completa** com base no número de amostras a serem analisadas, tal como descrito na tabela seguinte.

Nota: Para calcular os volumes dos dois subcomponentes a serem usados para a preparação da **mistura de reação completa**, é necessário definir o número de amostras (N) a serem testadas na sessão e seguir a tabela seguinte.

Número de amostras (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

- Prepare a **mistura de reação completa** adicionando ao tubo de 2 mL dedicado os volumes calculados dos dois componentes.
- Misture por **meio de vórtice a baixa velocidade** durante 10 segundos três vezes, centrifugue os tubos durante 5 segundos para levar o conteúdo para o fundo e mantenha em gelo.

Nota: A **mistura de reação completa** deve ser usada em **7 horas** se for mantida no bloco refrigerado. A mistura de reação completa **não pode** ser guardada para reutilização.

Nota: A **mistura da reação completa** é sensível à luz, não a expõe à luz direta.

Estão descritos nos parágrafos seguintes os passos principais para a preparação dos três tipos de execução.

A. Execução integrada

Para configurar uma execução integrada com extração e amplificação da amostra, execute os passos seguintes de acordo com a GUI:

- Descongele à temperatura ambiente (+18/25 °C) os tubos de teste contendo as amostras a serem analisadas e manuseie de acordo com as diretrizes laboratoriais e de acordo com o parágrafo "Amostras e controlos".
Lembre-se de que são necessários 600 µL de amostra para a análise.
- Descongele os tubos de **HIV1 CPE** à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos para a sessão. Cada tubo é suficiente para 12 extrações. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
- Selecione "Perform Run" a partir do ecrã "Home screen".
- Retire os Suportes da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
- Selecione o "run mode": "Extract + PCR".
- Carregue as amostras nos Racks 5 e 4 (comece sempre com o Rack 5).
- Insira o suporte na "Cooler Unit". Selecione "Next" para continuar a preparação.

Nota: Se forem carregados tubos secundários, assinala "Tubo de 2 mL". Se os tubos secundários não possuírem código de barras, digite manualmente a ID da amostra.

- Verifique o Volume de entrada de extração (600 µL) e o Volume de eluição extraído (50 µL).
- Selecione o Protocolo de ensaio a ser usado na coluna "Assay" (isto é, HIV1 ELITE_Be_PL_600_50). Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Se usado, repita os passos 7 a 9 para o Rack 4.
- Carregue os tubos de eluato nos Racks 3 e 2 (comece sempre com o Rack 3).

Nota: Os tubos de eluição podem ser etiquetados para melhorar a rastreabilidade.

- Insira o suporte na "Cooler Unit". Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Se usado, repita os passos 11 a 12 para o Rack 2.
- Carregue a **CPE** e a **mistura de reação completa** no Rack 1.
- Insira o Rack 1 na "Cooler Unit". Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Carregue e verifique os Suportes de pontas na "Inventory Area" (Área de inventário) seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Carregue o Cesto com "PCR Cassette" na Área de inventário seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Carregue o Cesto com os cartuchos de extração "ELITE InGenius SP 1000" e os consumíveis de extração necessários seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Feche a porta do instrumento.
- Pressione "Start" para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o **ELITE BeGenius** permite ao utilizador ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução a restante Amostra extraída pode ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 °C. Evite derramar a Amostra extraída.

Nota: No final da execução, a "PCR Cassette" com os produtos de reação e os consumíveis deve ser removida do instrumento e eliminada sem produzir contaminações ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

Nota: A **mistura de reação completa** pode ser mantida na "Cooler Unit" até 2 sessões de trabalho de 3 horas cada e durante o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão de trabalho (7 horas no total). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

B. Execução da amplificação

Para preparar a execução da amplificação a partir de ARN extraído, efetue os passos a seguir em conformidade com a GUI:

- Descongele à temperatura ambiente (~+25 °C) os tubos de teste que contêm as amostras de ácido nucleico extraído a serem analisadas. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
- Selecione "Perform Run" a partir do ecrã "Home screen".
- Retire os Suportes 1, 2 e 3 da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
- Selecione o "run mode": "PCR Only".
- Carregue as amostras nos Racks 3 e 2 (comece sempre com o Rack 3).
- Insira o suporte na "Cooler Unit". Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Mesmo que não seja efetuada a extração, verifique o Volume de entrada de extração (600 µL) e o Volume de eluição extraído (50 µL).
- Selecione o Protocolo de ensaio a ser usado na coluna "Assay" (por ex., HIV1 ELITE_Be_PL_600_50). Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Se usado, repita os passos 5 a 8 para o Rack 2.
- Carregue a **mistura de reação completa** no Rack 1.
- Insira o Rack 1 na "Cooler Unit". Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Carregue e verifique os Suportes de pontas na "Inventory Area" (Área de inventário) seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Carregue o Cesto com "PCR Cassette" na Área de inventário seguindo as instruções na GUI. Selecione "Next" para continuar a preparação.
- Feche a porta do instrumento.
- Pressione "Start" para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o **ELITE BeGenius** permite ao utilizador ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução a restante Amostra extraída pode ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 °C. Evite derramar a Amostra extraída.

Nota: No final da execução, a “PCR Cassette” com os produtos de reação deve ser removida do instrumento e eliminada sem produzir contaminações ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

Nota: A **mistura de reação completa** pode ser mantida na “Cooler Unit” até 2 sessões de trabalho de 3 horas cada e durante o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão de trabalho (7 horas no total). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

C. Execução de calibração

Para preparar a execução da calibração, com os Q-PCR Standards, efetue os passos a seguir em conformidade com a GUI:

1. Descongele os tubos **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 temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para preparar 2 reações. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
2. Selecione “Perform Run” a partir do ecrã “Home screen”.
3. Retire os Suportes 1, 2 e 3 da “Cooler Unit” e coloque-os na mesa de preparação.
4. Selecione o “run mode”: “PCR Only”.
5. Carregue os tubos do Calibrador no Rack 3.
6. Selecione o protocolo de ensaio a ser usado na coluna “Assay” (HIV1 ELITE_Be_STD). Clique no botão “Next” para continuar a preparação.
7. Carregue a **mistura de reação completa** no Rack 2.
8. Insira o Rack 2 na “Cooler Unit”. Selecione “Next” para continuar a preparação.
9. Carregue e verifique os Suportes de pontas na “Inventory Area” (Área de inventário) seguindo as instruções na GUI. Selecione “Next” para continuar a preparação.
10. Carregue o Cesto com “PCR Cassette” na Área de inventário seguindo as instruções na GUI. Selecione “Next” para continuar a preparação.
11. Feche a porta do instrumento.
12. Pressione “Start” para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o **ELITE BeGenius** permite ao utilizador ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução, os restantes Calibradores podem ser removidos do instrumento, tapados e guardados a -20 °C. Evite derramar os Q-PCR Standards.

Nota: Os **HIV1 Q-PCR Standards** podem ser usados para 2 sessões de trabalho independentes de 2 horas cada.

Nota: No final da execução, a “PCR Cassette” com os produtos de reação deve ser removida do instrumento e eliminada sem produzir contaminações ambientais. Evite quaisquer derrames dos produtos de reação.

Nota: A **mistura de reação completa** pode ser mantida no bloco refrigerado até 2 sessões de trabalho de 3 horas cada e durante o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão de trabalho (7 horas no total). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

D. Execução de Positive Control e Negative Control

Para preparar a execução do Positive Control e Negative Control da amplificação, efetue os passos a seguir em conformidade com a GUI:

1. Descongele os tubos de **HIV1 Positive Control** à temperatura ambiente (~+25 °C) durante 30 minutos para a sessão. Cada tubo é suficiente para preparar 4 reações. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos.
2. Transfira pelo menos 50 µL da água de qualidade para biologia molecular (como Negative Control) para as sessões num tubo Eluição, fornecido com o ELITE InGenius SP Consumable Set.
3. Selecione “Perform Run” a partir do ecrã “Home screen”.
4. Retire os Suportes 1, 2 e 3 da “Cooler Unit” e coloque-os na mesa de preparação.
5. Selecione o “run mode”: “PCR Only”.

6. Carregue os tubos de Positive Control e Negative Control no Rack 3.
7. Selecione o protocolo de ensaio a ser usado na coluna “Assay” (por ex., (HIV1 ELITE_Be_PC e HIV1 ELITE_Be_NC). Clique no botão “Next” para continuar a preparação.
8. Carregue a **mistura de reação completa** no Rack 2.
9. Insira o Rack 2 na “Cooler Unit”. Selecione “Next” para continuar a preparação.
10. Carregue e verifique os Suportes de pontas na “Inventory Area” (Área de inventário) seguindo as instruções na GUI. Selecione “Next” para continuar a preparação.
11. Carregue o Cesto com “PCR Cassette” na Área de inventário seguindo as instruções na GUI. Selecione “Next” para continuar a preparação.
12. Feche a porta do instrumento.
13. Pressione “Start” para iniciar a execução.

Após a conclusão do processo, o **ELITE BeGenius** permite ao utilizador ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

Nota: No final da execução, o restante Positive Control pode ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C. Evite derramar os Positive Controls. O restante Negative Control deve ser eliminado.

Nota: O **HIV1 Positive Control** pode ser usado para 4 sessões de trabalho independentes de 3 horas cada.

Nota: No final da execução, as “PCR Cassettes” com os produtos de reação e outros consumíveis devem ser removidos do instrumento e eliminados sem produzir contaminações ambientais. Evite quaisquer derrames dos produtos de reação.

Nota: A **mistura de reação completa** pode ser mantida no bloco refrigerado até 2 sessões de trabalho de 3 horas cada e durante o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão de trabalho (7 horas no total). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte.

Revisão e aprovação de resultados

No final da execução, é automaticamente apresentado o ecrã “Results Display”. Neste ecrã são mostrados os resultados da amostra/Calibrador/Controlo e a informação relativa à execução. A partir deste ecrã é possível aprovar o resultado, imprimir ou guardar os relatórios (“Sample Report” ou “Track Report”). Consulte o manual de utilizador do instrumento para obter mais informações.

O sistema **ELITE BeGenius** gera os resultados utilizando o HIV1 ELITE MGB Kit através do seguinte procedimento:

- A. Validação da Curva de calibração,
- B. Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control da amplificação,
- C. Validação dos resultados da amostra,
- D. Elaboração do relatório do resultado da amostra.

Nota: Consulte os mesmos capítulos do **ELITE InGenius** para obter mais informações.

**CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DO ELITE
InGenius e ELITE BeGenius**

Limite de detecção (LdD)

O Limite de detecção (LdD) do HIV1 ELITE MGB Kit foi definido em associação com amostras de plasma e o sistema ELITE InGenius.

O LoD foi definido através de testes a um painel de Plasma negativo para VIH-1 colhido em ACD reforçado com material de referência certificado VIH-1 (4.ª Norma internacional da OMS, NIBSC) a um título conhecido. Foram preparados seis níveis de diluições, desde 100 IU/mL até 6 IU/mL. Cada nível de diluição foi processado em 24 réplicas no sistema ELITE InGenius no modo "Extract + PCR" (Extração + PCR). O LoD foi calculado por análise de regressão Probit dos dados com a concentração a corresponder a 95% de probabilidade de um resultado positivo.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Limite de detecção (IU/mL) para plasma colhido em amostras de ACD e o ELITE InGenius			
Alvo	LoD	Intervalo de confiança de 95%	
		Limite inferior	Limite superior
VIH1	60	40	122

O LoD como cópias/mL para Plasma colhido em ACD foi calculado através da aplicação do fator de conversão específico (2,3 IU/cópia). A sensibilidade analítica como cópias/mL está reportada a seguir.

Limite de detecção (cópias/mL) para plasma colhido em amostras de ACD e o ELITE InGenius			
Alvo	LoD	Intervalo de confiança de 95%	
		Limite inferior	Limite superior
VIH1	26	17	53

O valor LoD calculado foi verificado através de testes a 30 réplicas de Plasma colhido em ACD e 30 réplicas de Plasma colhido em EDTA reforçadas por material de referência certificado VIH-1 (4.ª Norma internacional da OMS, NIBSC) a uma concentração reivindicada. O LoD é confirmado se, pelo menos, 27 em 30 réplicas derem resultado positivo em conformidade com a norma CLSI EP17-A.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Verificação do limite de detecção de plasma e ELITE InGenius					
Amostra	Título	Alvo	N	Positivo	Negativo
Plasma colhido em ACD	60 IU/mL	VIH1	30	29	1
Plasma colhido em EDTA	60 IU/mL	VIH1	30	28	2

O valor de LoD para o alvo VIH-1 foi confirmado a 60 IU/mL para Plasma colhido em ACD e Plasma colhido em EDTA.

O valor LdD calculado foi verificado em associação com o ELITE BeGenius através de testes a 30 réplicas de Plasma colhido em ACD e 30 réplicas de Plasma colhido em EDTA reforçadas por material de referência certificado VIH-1 (4.ª Norma internacional da OMS, NIBSC) à concentração declarada. O LoD é confirmado se, pelo menos, 27 em 30 réplicas derem resultado positivo em conformidade com a norma CLSI EP17-A.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Verificação do limite de detecção de plasma e o ELITE BeGenius					
Amostra	Título	Alvo	N	Positivo	Negativo
Plasma colhido em ACD	60 IU/mL	VIH1	30	30	0
Plasma colhido em EDTA	60 IU/mL	VIH1	30	27	3

O valor do LdD para o alvo de VIH-1 foi confirmado no ELITE BeGenius a 60 IU/mL para Plasma colhido em ACD e Plasma colhido em EDTA.

Equivalência da matriz: Plasma EDTA versus Plasma ACD

A equivalência de desempenhos do HIV1 ELITE MGB Kit foi verificada utilizando amostras de Plasma colhido em ACD e Plasma colhido em EDTA em associação com o sistema ELITE InGenius.

Foi realizado um teste em 30 amostras de Plasma colhido em EDTA e 30 amostras de Plasma colhido em ACD a partir dos mesmos 30 dados diferentes (amostras emparelhadas), com teste negativo para VIH-1 por um imunoenensaio com marcação CE IVD. As amostras foram testadas no sistema ELITE InGenius no modo "Extract + PCR". Foi avaliada a percentagem do acordo negativo.

A percentagem do Coeficiente de Variabilidade (%CV) dos valores de Ct do Controlo interno foi calculada para avaliar a equivalência das duas matrizes.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Amostra	N	Positivo	Negativo	% de acordo negativo	%CV do Ct do CI	%CV do Ct do CI (controlo interno completo)
Plasma colhido em EDTA	30	1	29	96,7%	1,80	1,81
Plasma colhido em ACD	30	0	30		1,81	

A amostra de plasma com resultado positivo demonstrou um título muito baixo (inferior a 60 IU/mL) que é compatível com uma identificação em falta por um ensaio CE IVD imunológico usado para certificar a negatividade da amostra.

Foi realizado um teste em 30 amostras emparelhadas de Plasma colhido em EDTA e de Plasma colhido em ACD, com teste negativo para VIH-1 por um imunoenensaio com marcação CE IVD e reforçado com material de referência certificado (4.ª Norma internacional VIH-1 da OMS, NIBSC) a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 180 IU/mL). As amostras foram testadas no sistema ELITE InGenius no modo "Extract + PCR". Foi avaliada a percentagem do acordo positivo. A percentagem do Coeficiente de Variabilidade (%CV) dos valores de Ct do alvo VIH-1 foi calculada para avaliar a equivalência das duas matrizes.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Amostra	N	Positivo	Negativo	% do acordo positivo	VIH-1 Ct %CV	%CV do Ct do VIH-1 completo	Tendências (Log IU/mL)
Plasma colhido em EDTA	30	30	0	100%	1,81	1,53	0,0744
Plasma colhido em ACD	30	30	0		1,18		

Nestes testes, as 30 amostras emparelhadas de Plasma colhido em EDTA e de Plasma colhido em ACD demonstraram um desempenho equivalente quando analisadas pelo HIV1 ELITE MGB Kit em associação com o sistema ELITE InGenius.

Foram realizados testes adicionais sobre a equivalência das matrizes durante o estudo de Intervalo de medição linear.

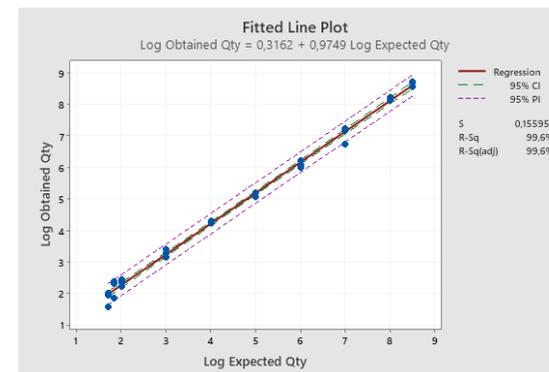
Intervalo de medição linear

O intervalo de medição linear do HIV1 ELITE MGB Kit foi determinado em associação com amostras de Plasma e os sistemas ELITE InGenius e ELITE BeGenius.

O intervalo de medição linear foi determinado com recurso a um painel de diluições do material de referência do VIH1 Grupo M subtipo B (ZeptoMetrix) em amostras negativas para VIH1 de Plasma colhido em EDTA e os sistemas ELITE InGenius e ELITE BeGenius. O painel era constituído por dez pontos de diluição desde 3,2 x10⁸ IU/mL até 50 IU/mL. Cada amostra do painel foi testada em 3 réplicas nos sistemas ELITE InGenius e ELITE BeGenius no modo "Extract + PCR".

A análise dos dados obtidos, realizada por regressão polinómica e regressão linear, demonstrou que o ensaio mostra uma resposta linear para todas as diluições com um coeficiente de correlação quadrado (R²) igual a 0,996 para o ELITE InGenius.

Os resultados são comunicados na figura seguinte.



O Limite inferior de quantificação (LLOQ) foi definido à concentração LoD que fornece resultados quantitativos precisos (Desvio standard = registo 0,3049 IU/mL) e exatos (Bias = registo 0,0759 IU/mL) dentro do registo $\pm 0,5$ IU/mL: 60 IU/mL.

O Limite superior de quantificação (ULOQ) foi definido à concentração mais alta que fornece resultados quantitativos precisos (Desvio standard = registo 0,0816 IU/mL) e exatos (Bias = registo 0,1459 IU/mL) dentro do registo $\pm 0,5$ IU/mL: 319.290.322 IU/mL.

O intervalo de medição linear como cópia/mL para Plasma EDTA é calculado através da aplicação do fator de conversão específico (2,3 IU/cópia).

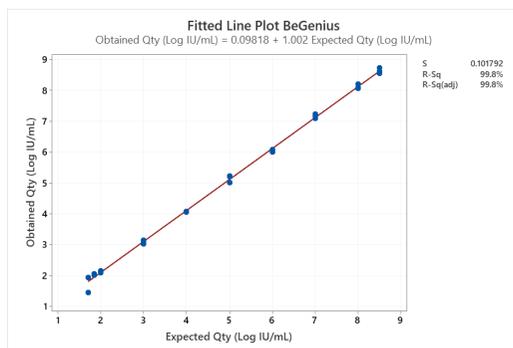
Os resultados finais estão resumidos na tabela seguinte.

Intervalo de medição linear para Plasma EDTA e o ELITE InGenius	
Limite inferior	Limite superior
60 IU/mL	319.290.322 IU/mL
26 cópias/mL	138.821.879 cópias/mL

O intervalo de medição linear do HIV1 ELITE MGB® Kit foi verificado em associação com amostras de plasma e o sistema **ELITE BeGenius** usando um painel de diluições de material de referência de VIH1 Grupo M subtipo B (ZeptoMetrix) em amostras de plasma em colhidas em ACD negativas para VIH1. O painel era constituído por dez pontos de diluição desde $3,2 \times 10^8$ IU/mL até 50 IU/mL. Cada amostra do painel foi testada em 3 réplicas no sistema ELITE BeGenius® no modo "Extract + PCR".

A análise dos dados obtidos, realizada por regressão polinómica e regressão linear, demonstrou que o ensaio mostra uma resposta linear para todas as diluições com um coeficiente de correlação quadrado (R²) igual a 0,998 para o **ELITE BeGenius**.

Os resultados são comunicados na figura seguinte.



O Limite inferior de quantificação (LLOQ) foi definido à concentração do LdD que fornece resultados quantitativos precisos (Desvio standard = 0,3353 Log IU/mL) e exatos (Bias = 0,3004 Log IU/mL) dentro de $\pm 0,5$ Log IU/mL: 60 IU/mL.

O Limite superior de quantificação (ULOQ) foi definido à concentração mais alta que fornece resultados quantitativos precisos (Desvio standard = registo 0,0891 IU/mL) e exatos (Bias = registo 0,1258 IU/mL) dentro do registo $\pm 0,5$ IU/mL: 319.290.322 IU/mL.

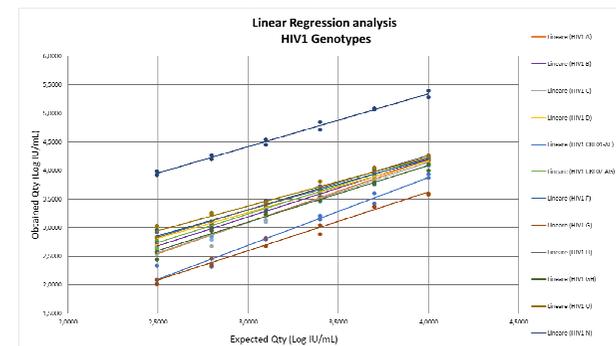
O intervalo de medição linear como cópia/mL para Plasma EDTA é calculado através da aplicação do fator de conversão específico (2,3 IU/cópia).

Os resultados finais estão resumidos na tabela seguinte.

Intervalo de medição linear para Plasma EDTA e o ELITE BeGenius	
Limite inferior	Limite superior
60 IU/mL	319.290.322 IU/mL
26 cópias/mL	138.821.879 cópias/mL

A linearidade da quantificação foi verificada através da análise de Plasma negativo colhido em EDTA reforçado com material de referência de VIH-1 (Painel do Subtipo VIH-1, Institute of Virology, Erlangen University Hospital) para os principais genótipos de VIH-1 (Grupo M Subtipo A, C, D, CRF01-AE, F, G, GH, H, CRF02-AG, Grupo O e Grupo N). Cada genótipo VIH-1 foi testado num painel de 6 níveis de diluição. Cada nível de diluição foi testado em 2 réplicas no sistema ELITE InGenius no modo "Extract + PCR" (Extração + PCR).

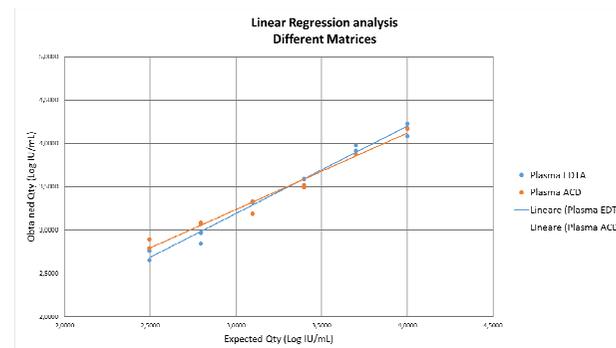
Os resultados são comunicados na figura seguinte.



A linearidade da quantificação do ensaio foi confirmada para os genótipos VIH-1 principais (Grupo M Subtipo A, C, D, CRF01-AE, F, G, GH, H, CRF02-AG, Grupo O e Grupo N): o valor R² variou de 0,972 a 0,999 e os resultados quantitativos encontram-se dentro de $\pm 0,5$ Registo IU/mL com exceção do VIH-1 Grupo N que foi sobrevalorizado a cerca de 1,5 Registo IU/mL em comparação com o valor teórico. No entanto, esta amostra também foi sobrevalorizada por "cobas® HIV1 para uso em sistemas 6800" (Roche Diagnostics).

A linearidade de quantificação foi verificada através da análise de Plasma negativo colhido em EDTA e Plasma negativo colhido em ACD reforçado com material de referência VIH-1 Grupo M subtipo B (Zeptomatrix). Cada matriz foi testada num painel de 6 níveis de diluição. Cada nível de diluição foi testado em 2 réplicas no sistema **ELITE InGenius** no modo "Extract + PCR" (Extração + PCR). Os resultados de teste correspondentes com Plasma colhido em EDTA foram comunicados como referência.

Os resultados são comunicados na figura seguinte.



A linearidade do ensaio foi confirmada para o Plasma colhido em EDTA e Plasma colhido em ACD, fornecendo resultados quantitativos dentro do registo $\pm 0,5$ IU/mL e um R² respetivamente de 0,984 e 0,980.

Inclusividade: Eficiência de deteção e eficiência de quantificação em diferentes genótipos

A eficiência de deteção de diferentes genótipos VIH-1 foi avaliada por comparação *in silico* das seqüências disponíveis nas bases de dados de nucleótidos.

A análise das regiões escolhidas para a hibridização dos primários e da sonda no alinhamento das seqüências do gene de polimerase (região da integrase) disponíveis na base de dados demonstraram conservação da seqüência suficiente nos genótipos VIH-1 do Grupo M (subtipo A, B, C, D, F, G, H, J, K, L), Grupo O, Grupo N, Grupo P e CRF, subtipos CRF01-AE, CRF02-AG, CRF03-AB. Por isso, é esperada uma deteção e quantificação eficientes para os diferentes genótipos VIH-1.

A inclusividade do ensaio, como eficiência de deteção e quantificação em diferentes genótipos, foi verificada através de testes a dois painéis de materiais de referência:

- "1.ª Preparação de referência internacional da OMS para CRF VIH-1", (NIBSC, código: 13/214) incluindo o Grupo O, CRF 11 GJ, CRF02-AG, CRF01-AE, CRF01 A, G, J, U, CRF BG 24, subtipo J, subtipo C, subtipo G e CRF ADG,

- "Painel do subtipo VIH-1", (Institute of Virology, Erlangen University Hospital) um painel de 20 membros de recolha diversa de VIH-1 do Grupo M subtipo A, B, C, D, CRF01-AE, F, G, H e GH, CRF02-AG, Grupo O e Grupo N.

Cada amostra do painel foi diluída a uma concentração de 3 x LdD (cerca de 180 IU/mL) em amostras negativas de Plasma colhido em ACD e testadas no sistema **ELITE InGenius** no modo "Extract + PCR".

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

1.ª Preparação de referência internacional da OMS para CRF VIH-1					
Subtipo/Grupo	Estirpe	Teórico IU/mL	Pos./Rep.	Ct médio	Média IU/mL
Grupo 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
Subtipo J	SE9173	180	3 / 3	35,91	210
Subtipo C	X1936	180	3 / 3	36,01	199
Subtipo G	P962	180	3 / 3	35,08	344
CRF ADG	24203	180	3 / 3	34,67	461

Painel do subtipo VIH-1 Erlangen					
ID da amostra	Estirpe	Teórico IU/mL	Pos./Rep.	Ct médio	Média IU/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

Todas as amostras foram corretamente detetadas e quantificadas dentro do título teórico de $\pm 0,5$ Log IU/mL (57 – 569 IU/mL) pelo HIV1 ELITE MGB Kit em associação com o instrumento **ELITE InGenius**, com exceção de quatro amostras que foram sobrevalorizadas. Em particular, os Grupo N e Grupo O do VIH-1 foram sobrevalorizados mais de 1 IU/mL de registo em comparação com o valor teórico. No entanto, estas amostras também foram sobrevalorizadas por "cobas HIV-1 para uso em sistemas 6800" (Roche Diagnostics).

Marcadores potencialmente interferentes: reatividade cruzada

A potencial reatividade cruzada com outros organismos não pretendidos do ensaio foi avaliada pela comparação *in silico* das sequências disponíveis nas bases de dados de nucleótidos.

As regiões escolhidas para a hibridização dos primários e a sonda foram verificadas no alinhamento das sequências de outros organismos disponíveis nas bases de dados. A análise das regiões de hibridização revelou a ausência de homologias significativas com os organismos não pretendidos, exceto para VIH2, o organismo mais relacionado com o VIH1 que possui uma homologia próxima dos 80%.

A ausência de reatividade cruzada com outros organismos que podem ser encontrados nas amostras clínicas de Plasma também foi verificada através de testes a um painel de materiais de referência certificados.

As amostras de ADN ou ARN genómico de diferentes marcadores potencialmente interferentes (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) foram analisadas a uma elevada concentração (pelo menos 10^5 cópias/reação) em três réplicas em associação com o sistema **ELITE InGenius** no modo "PCR Only". O

ADN ou ARN genómico de cada organismo foram adicionados com 80 000 cópias de Controlo interno por reação para imitar a amostra clínica extraída.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

ID da amostra	Pos./Rep. VIH-1	Resultado
HIV2	3 / 3	Reatividade cruzada
HTLV1	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HTLV2	0 / 3	Sem reatividade cruzada
CMV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
EBV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HAV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
VIH1	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HCV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HEV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HSV1	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HSV2	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HHV6	0 / 3	Sem reatividade cruzada
VZV	0 / 3	Sem reatividade cruzada

ID da amostra	Pos./Rep. VIH-1	Resultado
Flu A	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Flu B	0 / 3	Sem reatividade cruzada
RSV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
ADV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
WNV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
DV3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
EV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
PVB19	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Candida albicans</i>	0 / 3	Sem reatividade cruzada

Todos os marcadores potencialmente interferentes testados revelaram reatividade cruzada para o alvo de VIH1 usando o HIV1 ELITE MGB Kit à exceção do HIV2 que pode dar resultados positivos com uma quantificação 2.000 vezes menor que o título de VIH2 teórico.

Marcadores potencialmente interferentes: Interferência

A ausência de interferência por outros organismos que podem ser encontrados nas amostras clínicas de Plasma também foi verificada através de testes ao painel de materiais de referência certificados.

As amostras de ADN ou ARN genómico de diferentes marcadores potencialmente interferentes (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) a uma elevada concentração (pelo menos 10^5 cópias/reação) foram reforçadas com ARN genómico de VIH-1 (PEI) a uma baixa concentração (cerca de 20 cópias/reação). As amostras foram analisadas em três réplicas em associação com o sistema **ELITE InGenius** no modo "PCR Only". A cada amostra foram adicionados 80.000 cópias de Controlo interno por reação para imitar a amostra clínica

extraída.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

ID da amostra	Pos./Rep. VIH-1	Resultado
HIV2	3 / 3	Sem interferência
HTLV1	3 / 3	Sem interferência
HTLV2	3 / 3	Sem interferência
CMV	3 / 3	Sem interferência
EBV	3 / 3	Sem interferência
HAV	3 / 3	Sem interferência
VIH1	3 / 3	Sem interferência
HCV	3 / 3	Sem interferência
HEV	3 / 3	Sem interferência
HSV1	3 / 3	Sem interferência
HSV2	3 / 3	Sem interferência
HHV6	3 / 3	Sem interferência
VZV	3 / 3	Sem interferência
Flu A	3 / 3	Sem interferência
Flu B	3 / 3	Sem interferência
RSV	3 / 3	Sem interferência
ADV	3 / 3	Sem interferência
WNV	3 / 3	Sem interferência
DV3	3 / 3	Sem interferência
EV	3 / 3	Sem interferência
PVB19	3 / 3	Sem interferência
<i>Staphylococcus aureus</i>	3 / 3	Sem interferência
<i>Candida albicans</i>	3 / 3	Sem interferência

A presença dos organismos potencialmente interferentes testados demonstrou a ausência de inibição da amplificação do alvo VIH1 utilizando o HIV1 ELITE MGB Kit.

Nota: Mesmo se o VIH2 não inibir a deteção de VIH1, pode causar a sobrequantificação de VIH1 em amostras de indivíduos com dupla infeção devido à reatividade cruzada com VIH2.

Substâncias potencialmente interferentes

O efeito de substâncias potencialmente interferentes foi avaliado através da análise do painel "Painel de inibição AcroMetrix[®]" (Thermo Fisher Scientific Inc.) contendo substâncias endógenas, resultantes de hemólise, icterícia e lipemia, e substâncias exógenas, EDTA e Heparina.

As amostras do painel de inibição foram reforçadas com material de referência certificado VIH-1 (PEI) a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 180 IU/mL).

Além disso, foram testadas outras 14 substâncias potencialmente interferentes a uma concentração relevante: Ganciclovir, Azitromicina, Abacavir, Emtricitabine, Lamivudine, Tenofovir, Doravirine, Efavirenz, Rilpivirine, Atazanavir, Darunavir, Bictegravir, Elvitegravir, Maraviroc.

As substâncias foram adicionadas individualmente ao plasma negativo de VIH-1 colhido em ACD reforçadas com material de referência certificado VIH-1 (PEI) a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 180 IU/mL).

As amostras foram processadas em três réplicas no sistema **ELITE InGenius** no modo "Extract + PCR". Os valores Ct (amostras de referência e teste) do alvo VIH-1 e do Controlo Interno foram usados para calcular a percentagem do Coeficiente de Variabilidade (%CV) para avaliar a possível interferência.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Amostra	Pos./Rep. VIH-1	VIH-1 Ct %CV	%CV do Ct do CI	Resultado
EDTA	3 / 3	1,91	0,96	Sem interferência
Heparina	0 / 3	N.A.	10,82	Interferência
Sangue altamente hemolítico	3 / 3	0,99	1,35	Sem interferência
Plasma lipémico	3 / 3	0,94	0,44	Sem interferência
Plasma icterico	3 / 3	1,10	2,44	Sem interferência
Ganciclovir	3 / 3	0,80	0,32	Sem interferência
Azitromicina	3 / 3	0,92	0,41	Sem interferência
Abacavir	3 / 3	1,61	0,53	Sem interferência
Emtricitabine	3 / 3	1,06	0,65	Sem interferência
Lamivudina	3 / 3	1,61	0,47	Sem interferência
Tenofovir	3 / 3	0,84	0,92	Sem interferência
Doravirine	3 / 3	1,03	0,59	Sem interferência
Efavirenz	3 / 3	1,70	1,12	Sem interferência
Rilpivirine	3 / 3	1,11	0,39	Sem interferência
Atazanavir	3 / 3	0,87	0,73	Sem interferência
Darunavir	3 / 3	1,53	0,91	Sem interferência
Bictegravir	3 / 3	1,09	0,42	Sem interferência
Elvitegravir	3 / 3	1,23	0,63	Sem interferência
Maraviroc	3 / 3	1,68	0,78	Sem interferência

A maioria das substâncias testadas não interfere com a amplificação de VIH-1 ou do Controlo Interno. A percentagem %CV dos valores Ct foi inferior a 2,5%.

A heparina foi confirmada como sendo capaz de inibir a amplificação do VIH-1 mas, graças ao corte do Ct do controlo interno (CI Ct < 33), as amostras têm um resultado "inválido" e não um "falso negativo".

Ausência de contaminação cruzada

A ausência de contaminação cruzada foi testada através da análise dos resultados de cinco sessões, em que as amostras de plasma negativas para ARN de VIH-1 foram alternadas com amostras de plasma reforçadas por material de referência certificado VIH-1 (ZeptoMetrix) a uma concentração de 1x10⁶ IU/mL.

Foram testadas cinco séries de amostras, alternando seis amostras positivas com seis amostras negativas, no sistema **ELITE InGenius** no modo "Extract + PCR".

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Amostras	N	Negativo	Positivo
Plasma colhido em ACD reforçado a 1x10 ⁶ VIH-1 IU/mL	30	0	30
Plasma colhido em ACD negativo para VIH-1	30	30	0

Nenhuma das amostras negativas para VIH-1 testadas deu resultados falsos positivos. Neste teste, não foi detetada contaminação cruzada intra-sessão e entre sessões.

Taxa de falha geral do sistema

A taxa de falha geral do sistema, que origina resultados falsos negativos, foi verificada em associação com o **ELITE InGenius**, através da análise de um painel de amostras reforçado para ARN do VIH1 a baixo título.

100 amostras diferentes de plasma colhido em EDTA e 30 amostras diferentes de Plasma colhido em ACD com teste negativo para ARN do VIH-1 foram reforçadas com material de referência certificado (PEI) a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 180 IU/mL). As amostras foram testadas no sistema ELITE InGenius no modo "Extract + PCR".

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Amostras	N	Negativo	Positivo	IU/mL VIH-1 média
Plasma colhido em EDTA reforçado com VIH-1	100	0	100	247
Plasma colhido em ACD reforçado com VIH-1	30	0	30	196

Nenhuma das amostras positivas para VIH-1 testadas deu resultados falsos negativos. Neste teste, a taxa de falha geral do sistema foi igual a 0%.

A taxa de falha geral do sistema, que origina resultados falsos negativos, foi verificada em associação com o **ELITE BeGenius** através de um painel de amostras reforçado para ARN de VIH1 a baixo título.

100 amostras diferentes de plasma colhido em EDTA, com teste negativo para ARN de VIH1 foram reforçadas com material de referência certificado (PEI) a uma concentração de 3 x LdD (cerca de 180 IU/mL). As amostras foram testadas no sistema ELITE BeGenius no modo "Extract + PCR".

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Amostras	N	Negativo	Positivo	IU/mL VIH-1 média
Plasma colhido em EDTA reforçado com VIH-1	100	0	100	294

Nenhuma das amostras positivas para VIH-1 testadas deu resultados falsos negativos. Neste teste, a taxa de falha geral do sistema foi igual a 0%.

Repetibilidade

A Repetibilidade dos resultados obtidos pelo produto HIV1 ELITE MGB Kit em associação com os sistemas **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** foi testada através da análise de um painel de amostras de plasma. O painel incluiu uma amostra negativa e duas amostras reforçadas com material de referência certificado VIH-1 (PEI) a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 180 IU/mL) e de 10 x LoD (cerca de 600 IU/mL).

A repetibilidade foi obtida através da análise de amostras de painel em quatro réplicas, em duas execuções por dia, com o mesmo lote de produto, em dois dias diferentes. Foram usados três lotes de produtos no mesmo instrumento pelo mesmo operador. As amostras foram processadas em posições aleatórias no sistema **ELITE InGenius** no modo "Extract + PCR" (Extração + PCR).

Os valores da Ct do alvo e do Internal Control foram usados para calcular a %CV para avaliar a Repetibilidade como imprecisão.

Nas tabelas seguintes é apresentado um resumo dos resultados.

Repetibilidade intrasessão no ELITE InGenius								
Amostra	VIH1				Controlo Interno			
	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 8	Indet.	-	-	24 / 24	29,38	0,30	1,01
3x o LoD	8 / 8	34,91	0,34	0,99				
10x o LoD	8 / 8	33,08	0,24	0,73				

Repetibilidade intersessão no ELITE InGenius								
Amostra	VIH1				Controlo Interno			
	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 16	Indet.	-	-	48 / 48	29,40	0,27	0,91
3x o LoD	16 / 16	35,00	0,37	1,07				
10x o LoD	16 / 16	33,13	0,21	0,63				

No teste de Repetibilidade no **ELITE InGenius**, o ensaio detetou o alvo de VIH1 como esperado e mostrou valores de Ct com %CV abaixo de 5% para VIH1 e para o Controlo Interno.

A repetibilidade dos resultados obtidos pelo produto HIV1 ELITE MGB Kit em associação com o sistema **ELITE BeGenius** foi testada através da análise de um painel de amostras de plasma. O painel incluiu uma amostra negativa e duas amostras reforçadas com material de referência certificado VIH-1 (4th WHO International Standard, NIBSC) a uma concentração de 3 x LdD (cerca de 180 IU/mL) e de 10 x LdD (cerca de 600 IU/mL).

A repetibilidade foi obtida através da análise de amostras do painel em oito réplicas, em uma execução por dia, com o mesmo lote de produto, em dois dias diferentes. Foram usados três lotes de produtos no mesmo instrumento pelo mesmo operador. As amostras foram processadas em posições aleatórias no sistema **ELITE BeGenius** no modo "Extract + PCR".

Os valores da Ct do alvo e do Internal Control foram usados para calcular a %CV para avaliar a Repetibilidade como imprecisão.

Nas tabelas seguintes é apresentado um resumo dos resultados.

Repetibilidade intrasessão no ELITE BeGenius								
Amostra	VIH1				Controlo Interno			
	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 8	Indet.	-	-	24 / 24	29,71	0,40	1,34
3x o LoD	8 / 8	35,90	0,72	2,02				
10x o LoD	8 / 8	33,94	0,62	1,83				

Repetibilidade intersessão no ELITE BeGenius								
Amostra	VIH1				Controlo Interno			
	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 16	Indet.	-	-	48 / 48	29,78	0,32	1,06
3x o LoD	16 / 16	35,99	0,59	1,64				
10x o LoD	16 / 16	34,11	0,51	1,49				

No teste de Repetibilidade no **ELITE BeGenius**, o ensaio detetou o alvo de VIH1 como esperado e mostrou valores de Ct com %CV abaixo de 5% para VIH1 e para o Controlo Interno.

Reprodutibilidade

A Capacidade de reprodução dos resultados obtidos pelo produto HIV1 ELITE MGB Kit em associação com os sistemas **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** foi testada através da análise de um painel de amostras de plasma. O painel incluiu uma amostra negativa e duas amostras reforçadas com material de referência certificado VIH-1 (PEI) a uma concentração de 3 x LoD (cerca de 180 IU/mL) e de 10 x LoD (cerca de 600 IU/mL).

A reprodutibilidade foi obtida através da análise de amostras de painel em quatro réplicas, numa execução por dia, em dois dias por local. Foram usados três lotes diferentes do produto em três locais diferentes com três instrumentos diferentes e por três operadores diferentes. As amostras foram processadas em posições aleatórias no sistema **ELITE InGenius** no modo "Extract + PCR" (Extração + PCR).

Os valores de Ct do alvo e do Controlo Interno foram usados para calcular a %CV para avaliar a reprodutibilidade como imprecisão.

Na tabela seguinte é apresentado um resumo dos resultados.

Repetibilidade entre locais no ELITE InGenius								
Amostra	VIH1				Controlo Interno			
	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 24	Indet.	-	-	72 / 72	29,51	0,40	1,36
3x o LoD	24 / 24	35,01	0,66	1,88				
10x o LoD	24 / 24	33,34	0,23	0,68				

Repetibilidade interlote no ELITE InGenius								
Amostra	VIH1				Controlo Interno			
	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 48	Indet.	-	-	144 / 144	29,64	0,38	1,29
3x o LoD	48 / 48	35,06	0,39	1,10				
10x o LoD	48 / 48	33,31	0,32	0,97				

No teste de Repetibilidade no **ELITE InGenius**, o ensaio detetou o alvo de HIV1 como esperado e mostrou valores de Ct com %CV abaixo de 5% para VIH1 e para o Controlo Interno.

A reprodutibilidade dos resultados obtidos pelo produto HIV1 ELITE MGB Kit em associação com o sistema **ELITE BeGenius** foi testada através da análise de um painel de amostras de plasma. O painel incluiu uma amostra negativa e duas amostras reforçadas com material de referência certificado de VIH1 (4.^a Norma internacional da OMS, NIBSC) a uma concentração de 3 x LdD (cerca de 180 IU/mL) e de 10 x LdD (cerca de 600 IU/mL).

A reprodutibilidade foi obtida através da análise de amostras de painel em quatro réplicas, numa execução por dia, em dois dias por instrumento. Foram usados três lotes diferentes do produto com três instrumentos diferentes e por três operadores diferentes. As amostras foram processadas em posições aleatórias no sistema **ELITE BeGenius** no modo "Extract + PCR".

Os valores de Ct do alvo e do Controlo Interno foram usados para calcular a %CV para avaliar a reprodutibilidade como imprecisão.

Na tabela seguinte é apresentado um resumo dos resultados.

Capacidade de reprodução interinstrumento no ELITE BeGenius								
Amostra	VIH1				Controlo Interno			
	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 24	Indet.	-	-	72 / 72	29,97	0,74	2,47
3 x LoD	24 / 24	35,86	0,59	1,65				
10 x LoD	24 / 24	34,12	0,41	1,19				

Repetibilidade interlote no ELITE BeGenius								
Amostra	VIH1				Controlo Interno			
	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV	Pos./Rep.	Ct médio	SD	% CV
Negativo	0 / 48	Indet.	-	-	144 / 144	29,92	0,56	1,87
3x o LoD	48 / 48	35,79	0,67	1,87				
10x o LoD	48 / 48	34,06	0,33	0,98				

No teste de Repetibilidade no **ELITE BeGenius**, o ensaio detetou o alvo de VIH1 como esperado e mostrou valores de Ct com %CV abaixo de 5% para VIH1 e para o Controlo Interno.

Fator de conversão para unidades internacionais

O fator de conversão, para exprimir os resultados quantitativos em Unidades internacionais (IU)/mL a partir de cópias/mL, foi calculado com recurso a um painel de quatro diluições (Registo 0,5 entre diluições) do material de referência calibrado certificado "4.^a Norma internacional VIH-1 da OMS" (NIBSC) no plasma colhido em EDTA com teste negativo para ARN de VIH-1.

Cada ponto do painel foi testado em 27 réplicas com três lotes de produto diferentes, em três instrumentos diferentes, em três dias diferentes. As amostras foram processadas em posições aleatórias no sistema ELITE InGenius no modo "Extract + PCR" (Extração + PCR).

O fator de conversão foi calculado pela análise da diferença de concentração logarítmica entre o título de referência em IU/mL e os resultados obtidos em cópias/mL e é igual a 2,3 IU/cópia.

Na tabela seguinte é apresentado um resumo dos resultados.

Fator de conversão para unidades internacionais, Fc = 2,3 IU/cópia						
Amostra de referência			Resultado			Log diferença (ref. - teste)
IU/mL	IU/mL de Registo	N	Média c. / mL	Média IU / mL	Média Registo / mL	
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

Como a equivalência entre o plasma colhido em EDTA e Plasma ACD foi demonstrada (consulte Equivalência da matriz e Intervalo de medição linear), o fator de conversão pode ser aplicado às duas matrizes.

O fator de conversão, para exprimir os resultados quantitativos em Unidades internacionais (IU)/mL a partir de cópias/mL, foi verificado nos sistemas **ELITE BeGenius** e **ELITE InGenius** com recurso a um painel de diluições (0,5 Log entre diluições) do material de referência calibrado certificado ("4.^a Norma internacional da OMS, NIBSC) no plasma colhido em EDTA com teste negativo para ARN de VIH1. O painel era constituído por cinco pontos de diluição a partir de cerca de 4,0 Log IU/mL a 1,9 Log IU/mL. Cada ponto do painel foi testado em 4 réplicas.

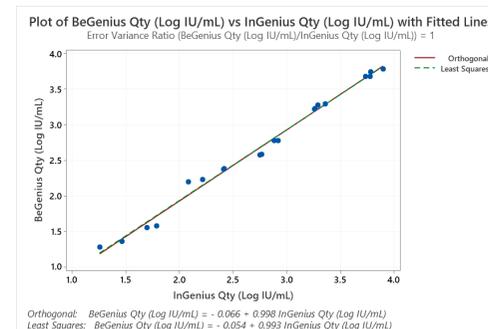
A precisão da quantificação do alvo, como um desvio padrão de Log IU/mL, foi menor que 0,5 Log.

A precisão da quantificação do alvo, como uma diferença entre as concentrações teóricas e medidas em Log IU/mL, foi menor que 0,5 Log.

Estes resultados confirmaram o fator de conversão calculado para amostras de plasma com o **ELITE InGenius**.

Os resultados obtidos pelo **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** e os métodos de referência foram analisados por regressão ortogonal e linear para calcular a correlação entre os métodos.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



A análise de regressão ortogonal gerou uma interceção igual a 0,066 (95% CI: 0,194; 0,061) e um declive igual a 0,998 (95% CI: 0,953 – 1,042). A análise de regressão linear gerou um R2 de 0,991.

Reprodutibilidade com material de referência

A reprodutibilidade dos resultados do ensaio comparada com os resultados obtidos com recurso a outros métodos em laboratórios diferentes, foi verificada através de testes ao painel de estudo de proficiência "Programa EQA de ARN do vírus de imunodeficiência humana QCMD 2018" (Qnostics).

Cada ponto do painel foi testado no sistema **ELITE InGenius** no modo "Extract + PCR".

Os valores de quantidade do consenso dos sistemas comerciais de amplificação em tempo real foram comparados com os resultados do ensaio, para avaliar a precisão como bias.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Painel VIH-1 QCMD 2018		Consenso	Resultados de testes	Diferença de registo (ref. ^a - teste)
ID da amostra	Conteúdo da amostra	Registo c/mL	Registo c/mL	
HIV1RNA18S-01	VIH-1 negativo	n.a.	n.a.	n.a.
HIV1RNA18S-02	VIH-1 Tipo B	3,777	3,920	-0,143
HIV1RNA18S-03	VIH-1 Tipo B	3,767	3,908	-0,141
HIV1RNA18S-04	VIH-1 Tipo B	2,315	2,449	-0,134
HIV1RNA18S-05	VIH-1 Tipo AG	2,987	3,466	-0,479
HIV1RNA18S-06	VIH-1 Tipo C	2,345	2,316	+0,029
HIV1RNA18S-07	VIH-1 Tipo C	3,357	3,307	+0,050
HIV1RNA18S-08	VIH-1 Tipo C	2,330	2,140	+0,190

Neste teste, o ensaio detetou corretamente todos os membros do painel. As sete amostras positivas foram quantificadas dentro do intervalo de consenso tecnológico $\pm 0,5$ Registo IU/mL.

A reprodutibilidade dos resultados do ensaio também foi verificada através de testes ao painel "HIV-1 RNA EDTA AccuSet™ Performance Panel" (SeraCare).

Cada ponto do painel foi testado no sistema ELITE InGenius no modo "Extract + PCR".

O valor de quantificação de referência das amostras obtidas utilizando o "COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HIV-1 Test" (Roche Diagnostics) e o "Abbott m2000 RealTime HIV-1 Assay" (Abbott), fornecidos pela SeraCare, foram comparados com os resultados do ensaio para avaliar a precisão como bias.

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Painel SeraCare HIV1		Resultados Roche COBAS	Resultados de testes	Diferença (ref. ^a – teste)
ID da amostra	Lote	Registo c/mL	Registo 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.

Painel SeraCare HIV1		Resultados Abbott m2000	Resultados de testes	Diferença (ref. ^a – teste)
ID da amostra	Lote	Registo c/mL	Registo 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.

Neste teste, o ensaio detetou corretamente todos os membros do painel. As dez amostras positivas foram quantificadas dentro do intervalo do resultado de referência (sistemas comerciais de amplificação em tempo real) ± 0,5 Registo IU/mL.

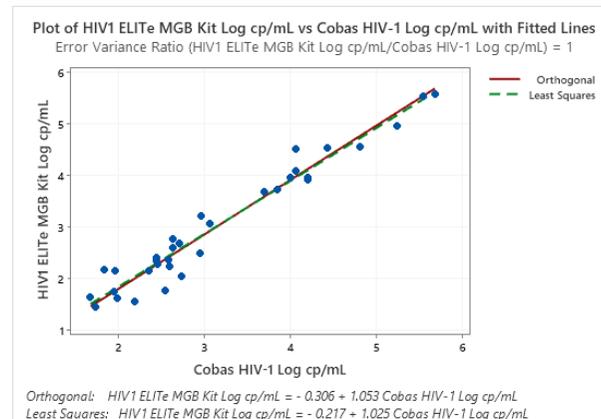
Sensibilidade de diagnóstico: correlação do método

A sensibilidade de diagnóstico do ensaio, como correlação dos resultados obtidos com diferentes métodos, foi avaliada em associação com o **ELITE InGenius** através da análise de pacientes clínicos positivos para ARN de VIH1 sujeitos a terapia antivírica e dentro do intervalo de medição do HIV1 ELITE MBG Kit e de métodos de referência de diagnóstico molecular com marcação CE IVD ("cobas HIV-1 para utilização nos sistemas 4800" e "cobas HIV-1 para utilização nos sistemas 6800", Roche Diagnostics, Cobas HIV-1). Dado que o **ELITE BeGenius** tem desempenhos analíticos equivalentes ao ELITE InGenius, os desempenhos de diagnóstico do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, a sensibilidade do diagnóstico do ensaio obtido em associação com o ELITE InGenius também se aplica ao ELITE BeGenius.

O estudo de correlação foi realizado no local 1 em 33 amostras clínicas positivas para ARN de VIH1 de plasma colhido em EDTA usando o "cobas HIV-1 para utilização no sistema 6800" como comparador.

Cada amostra foi testada através da realização de todo o procedimento de análise, extração, transcrição reversa, amplificação, deteção e interpretação de resultados pelos produtos ELITechGroup S.p.A. e pelos métodos de referência. Os resultados obtidos pelo HIV1 ELITE MBG Kit e os métodos de referência foram analisados por regressão ortogonal e linear para calcular a correlação entre os métodos.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



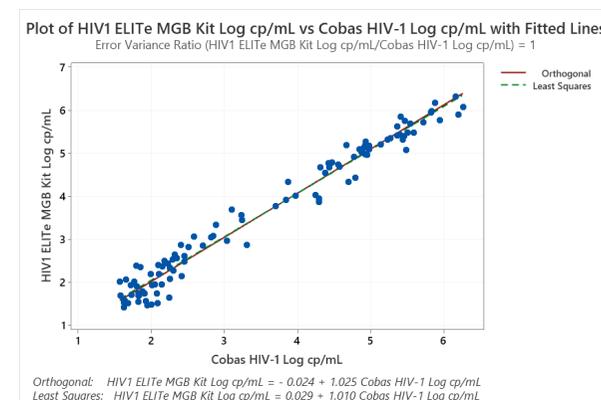
Neste teste, a análise da regressão ortogonal gerou um declive igual a 1,053 (95% IC: 0,967; 1,138) e uma interceção igual a -0,306 (95% CI: - 0,591; - 0,020). A análise de regressão linear gerou um R2 de 0,950.

O estudo de correlação foi realizado nos locais 2 e 3 nas seguintes 107 amostras de plasma colhido em EDTA usando o "cobas HIV-1 para utilização no sistema 4800" como comparador:

- local 2: 29 amostras clínicas positivas para ARN de HIV1 de plasma colhido em EDTA,
- local 3: 78 amostras clínicas positivas para ARN de HIV1 de plasma colhido em EDTA.

Cada amostra foi testada através da realização de todo o procedimento de análise, extração, transcrição reversa, amplificação, deteção e interpretação de resultados pelos produtos ELITechGroup S.p.A. e pelos métodos de referência. Os resultados obtidos pelo HIV1 ELITE MBG Kit e os métodos de referência foram analisados por regressão ortogonal e linear para calcular a correlação entre os métodos.

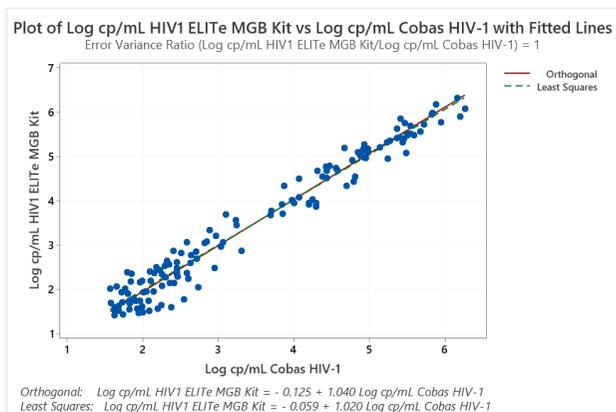
Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



Neste teste, a análise da regressão ortogonal gerou um declive igual a 1,025 (95% IC: 0,992; 1,059) e uma interceção igual a -0,024 (95% CI: -0,152 – 0,104). A análise de regressão linear gerou um R2 de 0,971.

Como dois métodos de referência ("cobas HIV-1 para utilização no sistema 4800" e "cobas HIV-1 para utilização no sistema 6800", Roche Diagnostics, Cobas HIV-1) têm desempenhos equivalentes, o estudo de correlação também foi realizado em resultados unidos de três locais diferentes.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



Neste teste, a análise da regressão ortogonal gerou um declive igual a 1,040 (95% CI: 1,006 - 1,073) e uma interceção igual a -0,125 (95% CI: -0,248 - 0,002). A análise de regressão linear gerou um R2 de 0,964.

Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

A especificidade de diagnóstico do ensaio, como percentagem de concordância negativa dos resultados obtidos com diferentes métodos, foi avaliada em associação com o **ELITE InGenius** através da análise de amostras clínicas negativas para ARN de VIH1 testadas por métodos de referência de diagnóstico molecular com marcação CE IVD ("cobas HIV-1 para utilização nos sistemas 4800" e "cobas HIV-1 para utilização nos sistemas 6800", Roche Diagnostics, Cobas HIV-1). Dado que o **ELITE BeGenius** tem desempenhos analíticos equivalentes ao ELITE InGenius, os desempenhos de diagnóstico do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, a especificidade de diagnóstico do ensaio obtido em associação com o ELITE InGenius também se aplica ao ELITE BeGenius.

Como dois métodos de referência ("cobas HIV-1 para utilização no sistema 4800" e "cobas HIV-1 para utilização no sistema 6800", Roche Diagnostics, Cobas HIV-1) têm desempenhos equivalentes, o estudo de especificidade de diagnóstico foi realizado em resultados unidos de três locais diferentes nas seguintes 196 amostras de plasma colhido em EDTA:

- local 1: 90 amostras clínicas negativas para ARN de HIV1 de plasma colhido em EDTA,
- local 2: 77 amostras clínicas negativas para ARN de HIV1 de plasma colhido em EDTA,
- local 3: 29 amostras clínicas negativas para ARN de HIV1 de plasma colhido em EDTA.

Cada amostra foi testada através da realização de todo o procedimento de análise, extração, transcrição reversa, amplificação, deteção e interpretação de resultados pelos produtos ELITechGroup S.p.A.. Os resultados obtidos pelo HIV1 ELITE MBG Kit foram analisados para calcular a percentagem de acordo negativo com os métodos de referência.

Os resultados, após análise da discrepância, estão resumidos na tabela seguinte.

Amostras	N	Positivo	Negativo	Inválida	Especificidade do diagnóstico
Plasma negativo para ARN de VIH-1 colhido em EDTA	196	1	195	0	99,5%

Neste teste, 195 amostras foram confirmadas negativas. Uma amostra deu um resultado positivo discordante com título mais baixo que o LoD do HIV1 ELITE MBG Kit e dos métodos de referência. Esta amostra deu um resultado muito baixo que pode aleatoriamente gerar resultados positivos. A especificidade de diagnóstico do HIV1 ELITE MBG Kit foi igual a 99,5%.

Nota: Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e os instrumentos estão registados na Secção 7 do Ficheiro técnico do produto "HIV1 ELITE MGB Kit", FTP 600ING.

REFERÊNCIAS

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

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Utilize este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: Plasma colhido em EDTA ou ACD. Plasma colhido em EDTA ou em ACD pode ser obtido a partir de sangue total guardado a +2/+25 °C durante um máximo de 24 horas.

Não use Plasma colhido em heparina com este produto: a heparina inibe a reação de amplificação de ácidos nucleicos e causa resultados inválidos.

Neste momento não existem dados disponíveis relativos ao desempenho do produto com outras amostras clínicas, como sangue total, soro ou CSF.

Este produto não está previsto para utilização como teste de rastreio da presença de VIH1 no sangue ou em produtos de sangue ou como teste de diagnóstico para confirmar a presença de uma infeção pelo VIH1.

Este produto demonstra reatividade cruzada com VIH-2 que pode dar origem a resultados positivos com uma quantificação 2000 vezes mais baixa que o título VIH-2 teórico. Não obstante, tendo em conta a utilização prevista do produto, a epidemiologia VIH-2 e a implementação de algoritmos de diagnóstico claros (por ex., CDC) destinados a distinguir a infeção pelo VIH-1 do VIH-2, a reatividade cruzada de VIH-2 não representa um problema real. No entanto, o HIV1 ELITE MGB Kit não é ideal para auxiliar na gestão de indivíduos duplamente infetados pelo VIH-1 e VIH-2. Nesse caso, o VIH2 não inibe a deteção de VIH1, pode causar a sobrequantificação de VIH1 devido à reatividade cruzada com VIH2.

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

Devido à sua elevada sensibilidade analítica, o método de amplificação em Tempo real usado neste produto é sensível a contaminações cruzadas a partir de amostras positivas, dos controlos positivos e dos mesmos produtos de amplificação. Contaminações cruzadas causadas por falsos resultados positivos. O formato do produto é capaz de limitar contaminações cruzadas. No entanto, as contaminações cruzadas podem ser evitadas simplesmente através de boas práticas laboratoriais e do cumprimento destas instruções de utilização.

Este produto deve ser manuseado por pessoal qualificado e com formação no processamento de amostras biológicas potencialmente infecciosas e de preparações químicas classificadas como perigosas, para evitar acidentes com consequências potencialmente graves para o utilizador e outras pessoas.

Este produto requer o uso de vestuário e áreas de trabalho que sejam adequados para o processamento de amostras biológicas potencialmente infecciosas e de preparações químicas classificadas como perigosas, para evitar acidentes com consequências potencialmente graves para o utilizador e outras pessoas.

Este produto requer o uso de vestuário especial e instrumentos específicos para preparação da sessão de trabalho, para evitar falsos resultados positivos.

Este produto deve ser manuseado por pessoal profissional, qualificado e com formação em técnicas de biologia molecular, como extração, amplificação e deteção de ácidos nucleicos, para evitar resultados incorretos.

É necessário ter áreas separadas para a preparação da mistura de reação completa e da extração/amplificação/deteção de produtos de amplificação para evitar falsos resultados positivos.

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

Um resultado negativo obtido com este produto significa que o ARN alvo não foi detetado no ARN extraído da amostra; mas não pode negligenciar-se o facto de o ARN alvo ter um título mais baixo que o limite de deteção do produto (Ver Características de desempenho). Neste caso, o resultado podia ser um falso negativo.

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

Possíveis polimorfismos, inserções ou eliminações na região do ARN alvo abrangidos pelos primários do produto e as sondas podem prejudicar a deteção e quantificação do ARN alvo.

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, os resultados obtidos com este produto devem ser interpretados tendo em conta todos os dados clínicos e outros testes laboratoriais efetuados ao doente.

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, existe um risco residual de resultados inválidos, falsos positivos e falsos negativos obtidos com este produto. Este risco residual não pode ser eliminado ou ainda mais reduzido. Em alguns casos, este risco residual pode contribuir para decisões erradas com potenciais efeitos perigosos para o doente.

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

Reação de Q-PCR Standard ou reação de Positive Control inválida Curva standard inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa, dos Q-PCR Standards e do Positive Control. Verifique os volumes da mistura de reação completa, dos Q-PCR Standards e do Positive Control.
Erro na preparação da mistura de reação completa.	Verifique os volumes dos reagentes usados durante a preparação da mistura de reação completa.
Degradação da mistura de reação completa ou dos seus subcomponentes.	Não use a mistura de reação completa durante mais de três sessões (7 horas na Inventory Area). Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos. Não deixe a mistura de reação completa à temperatura ambiente durante mais de 30 minutos. Utilize uma nova alíquota de subcomponentes.
Degradação dos Q-PCR Standards ou do Controlo Positivo.	Não use o Q-PCR Standard durante mais de 2 sessões independentes (2 horas cada na área de Extração). Não use o Controlo Positivo (Positive Control) para mais de 4 sessões independentes (3 horas cada na área de extração). Use novas alíquotas dos Q-PCR Standards ou do Controlo positivo (Positive Control).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Reação de Controlo Negativo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa e do Negative Control. Verifique os volumes da mistura de reação completa e do Negative Control.
Contaminação da mistura de reação completa ou dos respetivos subcomponentes.	Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
Contaminação do Negative Control.	Não use o Controlo Negativo para mais do que 1 sessão. Utilize uma nova alíquota de água de grau de biologia molecular.
Contaminação da área de extração, de Racks ou do Inventory Block.	Limpe as superfícies com detergentes aquosos, lave as batas de laboratório, substitua os tubos de ensaio e as pontas em utilização.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa e da amostra. Verifique os volumes da mistura de reação completa e da amostra.
Erro na preparação da mistura de reação completa.	Verifique os volumes dos reagentes usados durante a preparação da mistura de reação completa.
Degradação da mistura de reação completa ou dos seus subcomponentes.	Não use a mistura de reação completa durante mais de três sessões (7 horas na Inventory Area). Não deixe a mistura de reação completa à temperatura ambiente durante mais de 30 minutos. Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos. Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de subcomponentes.
Degradação do modelo de Controlo Interno.	Utilize uma nova alíquota de Controlo Interno.
Inibição devido a substâncias que interferem na amostra.	Repita a amplificação com uma diluição de 1:2 em água de qualidade para biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR only". Repita a extração com uma diluição 1:2 em água de qualidade para biologia molecular da amostra numa sessão "Extract + PCR" (Extração + PCR).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Erro 30103	
Causas possíveis	Soluções
Concentração demasiado alta do alvo na amostra.	Se for observada uma amplificação significativa no gráfico de PCR: - seleccione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado. Se for necessário um valor Ct: - repita a amplificação com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR Only" (apenas PCR) ou - repita a extração com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular da amostra principal numa sessão "Extract + PCR" (Extração + PCR).

Erro TH, Erro SDM, Erro Ct	
Causas possíveis	Soluções
Amostra com formato anómalo do traçado.	Se for observada uma amplificação significativa no lote PCR que produz o erro: - repita a amplificação com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR Only" (apenas PCR) ou - repita a extração com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular da amostra principal numa sessão "Extract + PCR" (Extração + PCR).

SÍMBOLOS

REF

Número do catálogo.



Limite máximo da temperatura.

LOT

Código do lote.



Usar até (último dia do mês).

IVD

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*.



Cumprimento dos requisitos da Diretiva Europeia 98/79/CE relativa a dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*. Certificação publicada pela DEKRA Certification B.V., Holanda.

0344



Contém suficiente para "N" testes.



Atenção, consulte as instruções de utilização.

CONT

Conteúdo.



Manter afastado da luz solar.



Fabricante.

NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA

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

Os reagentes de deteção ELITe MGB® são abrangidos por um ou mais números de patente dos EUA 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 e números de patente EP 1068358, 1144429, 1232157, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939 bem como os pedidos que estejam atualmente pendentes.

A tecnologia ELITe InGenius® e ELITe BeGenius® está protegida por patentes e pedidos de patentes.

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

TaqMan™ é uma marca comercial da Thermo Fisher Scientific.

cobas® é uma marca comercial registada da Roche Diagnostics.

ELITe MGB®, o logotipo ELITe MGB® e ELITe InGenius® e ELITe BeGenius® são marcas comerciais registadas do ELITechGroup. na União Europeia.



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

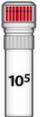
Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	HIV1 polymerase gene (integrase region)	FAM	HIV1
Internal Control	MS2	AP525	IC

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	› Conversion factor to IU	Copies: Copies/mL
› Total elution volume	50 µL	› Frequency of controls	2.3 IU/copy
› PCR elution input volume	20 µL	› Frequency of calibration	15 days
› Complete PCR Mix volume	20 µL		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 <i>141 quantified samples</i>	99.5% <i>195 confirmed samples / 196 tested samples</i>

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 ≤ N ≤ 5	(N + 1) × 20 µL	(N + 1) × 0.3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) × 20 µL	(N + 2) × 0.3 µL
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

- Switch on ELiTe BeGenius.
Log in with username and password
Select the mode "Closed"
- 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
- 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

- 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

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



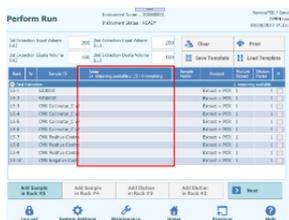
- Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the cooling area. The barcode scan is already active



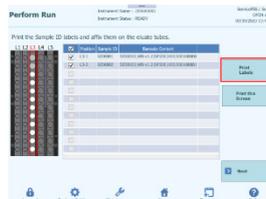
- Verify the extraction volumes: Input: "600 μL ", Eluate: "50 μL "



- Select the "Assay protocol" of interest



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



- 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

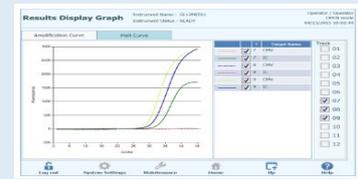
- Load: Filter Tips, Extraction rack, and PCR rack



- Close the door. Start the run



- View, approve and store the results



Procedure 2 - PCR only

- Select "Perform Run" on the touch screen and the click on the run mode «PCR Only»
- Load the extracted nucleic acid barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the cooling area
- Select the "Assay protocol" of interest
- Load the complete reaction mixture in Reagent Rack and insert it in the cooling area Load filter tips and the PCR rack
- Close the door. Start the run
- 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