

Instructions for use

HIV1 ELITe MGB® Kit

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



REF RTK600ING

UDI 08033891487126

CE **IVD**
0123

HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Rév.	Avis de modification	Date (jj/mm/aa)
08-R	Extension de l'utilisation du produit en association avec l'instrument MyGenius PRO (RÉF INT050) et les matrices de plasma EDTA ou ACD. Mise à jour au « Model 2 version 4.0.2 » des protocoles de test pour les instruments ELITe InGenius® (RÉF INT030) et ELITe BeGenius® (RÉF INT040). Nouveaux graphiques et contenu du mode d'emploi.	16/09/26
07-R	Remplacement du tube de 2 mL 953-217 et du capuchon blanc 953-223 par le tube de 2 mL 953-065 associé aux tubes des composants du PCR Mix	01/08/25
06-R	Mise à jour pour garantir la conformité aux exigences du Règlement (UE) 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> (IVDR). Mise à jour des performances analytiques et diagnostiques au paragraphe CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE NOTE! La composition du produit reste inchangée	16/06/25
05	Autres produits requis : remarque concernant la disponibilité des produits HIV1 ELITe Standard (Réf STD600ING) et HIV1 - ELITe Positive Control (Réf CTR600ING) en tant que produits distincts. Procédure avec le ELITe BeGenius : instructions détaillées pour la préparation du mélange réactionnel complet pour un nombre d'échantillons supérieur à 12, en association avec l'instrument ELITe BeGenius. Procédure avec le ELITe BeGenius : correction d'une erreur typographique dans la description du protocole de test. Avertissements et précautions spécifiques pour les composants : extension de la durée d'utilisation de chaque tube de réactif jusqu'à 60 jours à compter de la première ouverture.	07/06/24
00 - 04	Développement de nouveaux produits et modifications ultérieures	-

SOMMAIRE

1 Application	4
2 PRINCIPE DU TEST	4
3 DESCRIPTION DU PRODUIT	4
4 MATÉRIEL FOURNI.....	6
5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	6
6 AUTRES PRODUITS REQUIS.....	7
7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS.....	7
8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES pour les ELITe InGenius, ELITe BeGenius et MyGenius PRO.....	9
9 PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius	12
10 PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius	20
11 PROCÉDURE MyGenius PRO.....	26
12 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC ELITe InGenius, ELITe BeGenius et MyGenius PRO	33
13 BIBLIOGRAPHIE	48
14 LIMITES DE LA PROCÉDURE.....	48
15 PROBLÈMES ET SOLUTIONS	50
16 LÉGENDE DES SYMBOLES	55
17 AVIS AUX UTILISATEURS.....	56
18 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	56
Appendix A QUICK START GUIDE.....	57
Appendix B QUICK START GUIDE.....	63

1 Application

Le produit **HIV1 ELITe MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test quantitatif de transcription inverse et de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la détection et la quantification de l'ARN du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1), extrait d'échantillons cliniques.

Le test est validé en association avec les instruments **ELITe InGenius®**, **ELITe BeGenius®** et **MyGenius PRO®** (nom d'enregistrement ELIVERSE®), des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, de transcription inverse, de PCR en temps réel et d'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons humains de plasma prélevé sur EDTA ou ACD.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide à la prise en charge des individus infectés par le VIH-1 recevant une thérapie antivirale.

Les résultats doivent être interprétés en association avec l'ensemble des observations cliniques pertinentes et des résultats du laboratoire.

Le produit n'est pas destiné au dépistage ou à la détection de la présence ou de l'exposition à des agents transmissibles dans le sang, les composants sanguins, les cellules, les tissus, les organes ou l'un de leurs dérivés, afin d'évaluer leur aptitude à la transfusion, à la transplantation ou à l'administration de cellules. Le produit n'est pas destiné à être utilisé comme un test de diagnostic pour confirmer la présence d'une infection par le VIH-1.

2 PRINCIPE DU TEST

Le test est une PCR en temps réel quantitative par transcription inverse et en une seule étape qui détecte l'ARN du VIH-1, isolé à partir d'échantillons, soumis à une transcription inverse puis amplifié en utilisant un mélange réactionnel complet qui contient des amorces et des sondes dotées de la technologie ELITe MGB® et TaqMan MGB.

Les sondes ELITe MGB et TaqMan MGB sont activées lorsqu'elles s'hybrident aux produits de PCR associés. **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** et **MyGenius PRO** surveillent l'augmentation de la fluorescence et calculent le cycle seuil (Ct) ainsi que les températures de fusion (Tm). La quantité de VIH-1 est calculée en se basant sur une courbe d'étalonnage enregistrée.

Dans les sondes ELITe MGB, les fluorophores sont désactivés lorsque la sonde est à l'état simple brin et enroulée de manière aléatoire. Les fluorophores sont actifs dans le duplex sonde/amplicon étant donné que le désactivateur est spatialement séparé du fluorophore. Noter que le fluorophore n'est pas clivé pendant la PCR et peut être utilisé pour l'analyse de dissociation et le calcul de la température de fusion.

3 DESCRIPTION DU PRODUIT

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

- **HIV1 ELITe MGB Mix**

Ce composant fournit les deux sous-composants suivants :

- le **HIV1 PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient :
 - des amorces et des sondes spécifiques pour le VIH-1, gène de la polymérase (région de l'intégrase), détecté dans le Canal HIV1 ; les sondes sont stabilisées par le groupe MGB®, désactivées par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquées par le colorant FAM®, and labeled by FAM dye,
 - des amorces et des sondes spécifiques pour le Contrôle interne (IC), spécifique d'une région de l'ARN génomique du phage MS2, détecté dans le canal IC ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher, et marquée par le colorant AquaPhluor® AP525,
 - un tampon, du chlorure de magnésium, des nucléotides triphosphates et l'enzyme ADN polymérase avec activation thermique (Hot start).
- **RT EnzymeMix**, un mélange d'enzymes optimisé et stabilisé pour la transcription inverse.

Le **HIV1 ELITE MGB Mix** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **96 tests** sur les **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** et **MyGenius PRO**, en utilisant 20 µL de **HIV1 PCR Mix** et 0,3 µL de **RT EnzymeMix** par réaction.

- **HIV1 ELITE Standard**

Ce composant fournit les sous-composants **HIV1 Q-PCR Standard**, quatre solutions stabilisées d'ADN plasmidique contenant la région amplifiée du gène de la polymérase du VIH-1 à un titre connu. Le HIV1 ELITE Standard doit être utilisé avec le HIV1 ELITE MGB Mix sur les ELITE InGenius, ELITE BeGenius et MyGenius PRO afin de calculer la courbe d'étalonnage du système (lot du produit et instrument) pour la quantification du VIH-1.

NOTE!

La concentration de l'ADN plasmidique, déterminée par un spectrophotomètre UV (en copies/mL), a été corrélée au « 4^e étalon international de l'OMS pour le VIH-1 » (NIBSC, Royaume-Uni, code 16/194) par un facteur de conversion permettant de quantifier le VIH-1 en unité internationale/mL (UI/mL).

Le **HBV ELITE Standard** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **2 sessions d'analyse** sur les **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** et **MyGenius PRO**, en utilisant 20 µL par réaction.

- **HIV1 - ELITE Positive Control**

Ce composant contient le sous-composant **HIV1 Positive Control**, une solution stabilisée d'ADN plasmidique contenant la région amplifiée du gène de la polymérase du VIH-1 à un **titre connu**. Le **HIV1 Positive Control** doit être utilisé avec le **HIV1 ELITE MGB Mix** sur les **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** et **MyGenius PRO** afin de construire des graphiques de contrôle pour la vérification du système (lot du produit et instrument).

Le **HIV1 Positive Control** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **8 sessions d'analyse** sur les **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** et **MyGenius PRO** (**4 sessions d'analyse avec chaque tube**), en utilisant 20 µL par réaction.

- **HIV1 Internal Control**

- Ce composant contient le sous-composant **HIV1 CPE** (Contrôle interne exogène), une solution stabilisée d'ARN génomique du phage MS2. Le **HIV1 CPE**, qui doit être utilisé sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, est ajouté aux réactifs d'extraction pour valider les résultats des échantillons négatifs pour le VIH-1.

- Le **HIV1 Internal Control** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **96 tests** sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** (**12 tests avec chaque tube**), en utilisant 10 µL par extraction.

Le **HIV1 Internal Control** n'est **PAS** utilisé en association avec le **MyGenius PRO**, pour lequel il convient d'utiliser le produit Internal Control Maxi (réf. ICMAXI) (non inclus dans le kit).

4 MATÉRIEL FOURNI

Tableau 1

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

5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.
- Agitateur de type vortex.
- Centrifugeuse de paillasse (~5 000 tr/min).
- Microcentrifugeuse de paillasse (~13 000 tr/min).
- Micropipettes et embouts stériles avec filtre pour aérosols ou embouts stériles à déplacement positif (plage de volumes : 0,5-1000 µL).
- Tubes stériles à capuchon vissant de 2,0 mL (Sarstedt, Allemagne, réf. 72.694.005).
- Tubes stériles à capuchon vissant de 0,5 mL (Sarstedt, Allemagne, réf. 72.730.005)
- Eau de qualité biologie moléculaire.

6 AUTRES PRODUITS REQUIS

Les réactifs pour l'extraction de l'ARN des échantillons et les consommables ne sont **pas** fournis avec ce produit. Pour l'extraction automatisée des acides nucléiques, la transcription inverse, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats des échantillons, les produits suivants sont requis.

Tableau 2

Instrument et logiciel	Produit et réactifs
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, réf. INT030) ELITe InGenius Software version 1.4.0 (ou versions ultérieures) HIV1 ELITe_STD , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs HIV1 ELITe_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif HIV1 ELITe_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif HIV1 ELITe_PL_600_50 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma	ELITe InGenius SP 1000 (EG SpA, réf. INT033SP1000) Consommables pour les ELITe InGenius et ELITe BeGenius (se reporter au mode d'emploi des instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius)
ELITe BeGenius (EG SpA, réf. INT040) ELITe BeGenius Software version 2.3.0. (ou versions ultérieures) HIV1 ELITe_Be_STD , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs HIV1 ELITe_Be_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif HIV1 ELITe_Be_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif HIV1 ELITe_Be_PL_600_50 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma	
MyGenius PRO (EG SpA réf. : INT050). MyGenius PRO Software version BB-04 (ou versions ultérieures) HIV1 ELITe_My_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif HIV1 ELITe_My_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Negative Control HIV1 ELITe_My_STD , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs HIV1 ELITe_My_PL_IU_600_50 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma avec des résultats en UI/mL HIV1 ELITe_My_PL_cmL_600_50 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma avec des résultats en copies/mL	Internal Control Maxi (EG SpA, réf. ICMAXI) Negative Control (EG SpA, réf. CTRNEG) Consommables pour le MyGenius PRO (se reporter au mode d'emploi de l'instrument MyGenius PRO)

7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

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

7.1 Avertissements et précautions d'ordre général

- Manipuler et éliminer tous les échantillons biologiques comme s'ils étaient infectieux. Éviter tout contact direct avec les échantillons biologiques. Éviter de provoquer des éclaboussures ou des pulvérisations. Les tubes, embouts et tout autre matériel qui a été en contact avec les échantillons biologiques doivent être traités pendant au moins 30 minutes avec de l'hypochlorite de sodium à 3 % (eau de Javel) ou autoclavés pendant une (1) heure à 121 °C avant d'être mis au rebut.
- Manipuler et éliminer tous les réactifs et l'ensemble du matériel qui ont été utilisés pour réaliser le test comme s'ils étaient infectieux. Éviter tout contact direct avec les réactifs. Éviter de provoquer des éclaboussures ou des pulvérisations. Les déchets doivent être manipulés et éliminés dans le respect des normes de sécurité adéquates. Le matériel combustible jetable doit être incinéré. Les déchets liquides contenant des acides ou des bases doivent être neutralisés avant d'être éliminés. Éviter tout contact des réactifs d'extraction avec l'hypochlorite de sodium (eau de Javel).
- Porter des vêtements et des gants de protection appropriés et se protéger les yeux et le visage.
- Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.
- Ne pas manger, boire, fumer ou appliquer de produits cosmétiques dans les zones de travail.
- Se laver soigneusement les mains après toute manipulation des échantillons et des réactifs.
- Éliminer les réactifs restants et les déchets conformément aux réglementations en vigueur.
- Lire attentivement toutes les instructions indiquées avant d'exécuter le test.
- Lors de l'exécution du test, suivre les instructions fournies avec le produit.
- Ne pas utiliser le produit au-delà de la date de péremption indiquée.
- Utiliser uniquement les réactifs fournis avec le produit et ceux recommandés par le fabricant.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.
- Ne pas utiliser de réactifs commercialisés par d'autres fabricants.

7.2 Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

Il est nécessaire d'utiliser des blouses de laboratoire, des gants et des instruments dédiés à la session de travail. Il est nécessaire de disposer de zones distinctes pour le test de biologie moléculaire et le test de culture microbiologique. Ne jamais manipuler la culture liquide ou solide dans la zone dédiée aux réactions d'extraction/d'amplification.

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

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

Les produits d'extraction doivent être manipulés de manière à éviter leur dispersion dans l'environnement et à prévenir toute contamination de la zone de travail de l'instrument.

Les PCR Cassettes (Cassettes de PCR) doivent être manipulées avec précaution et ne doivent jamais être ouvertes afin d'éviter la diffusion des produits de PCR et toute contamination croisée.

7.3 Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Tableau 3

Composant (Sous-composant)	Température de stockage	Utilisation après la première ouverture	Cycles de congélation/ décongélation	Stabilité à bord de l'instrument (ELITe InGenius et ELITe BeGenius)	Stabilité à bord de l'instrument (MyGenius PRO)
HIV1 ELITe MGB Mix (HIV1 PCR Mix)	-20 °C ou température plus basse (à l'abri de la lumière)	60 jours	jusqu'à cinq	non applicable	non applicable
HIV1 ELITe MGB Mix (RT EnzymeMix)	-20 °C ou température plus basse	60 jours	jusqu'à dix fois et jusqu'à dix minutes à +2/ +8 °C	non applicable	non applicable
HIV1 ELITe Standard (HIV1 Q-PCR Standard)	-20 °C ou température plus basse	60 jours	jusqu'à deux	2 sessions d'analyse distinctes de 2 heures chacune	jusqu'à 2 heures pour 4 fois*
HIV1 - ELITe Positive Control (HIV1 Positive Control)	-20 °C ou température plus basse	60 jours	jusqu'à quatre	4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune	jusqu'à 3 heures pour 4 fois*
HIV1 Internal Control (HIV1 CPE)	-20 °C ou température plus basse	60 jours	jusqu'à six	6 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune	non applicable

* avec des cycles de congélation/décongélation intermédiaires

8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES pour les ELITe InGenius, ELITe BeGenius et MyGenius PRO

8.1 Échantillons et protocoles de test

Ce produit est destiné à être utilisé sur les instruments **ELITe InGenius**, **ELITe BeGenius** et **MyGenius PRO** avec les échantillons cliniques validés pertinents, identifiés et manipulés selon les directives du laboratoire, et prélevés, transportés et conservés dans les conditions suivantes :

Tableau 4

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Plasma	EDTA ou ACD	≤ 2 jours	≤ 3 jours	≤ 1 mois	≤ 6 mois

EDTA, acide éthylènediaminetétraacétique ; ACD, Acide-Citrate-Dextrose

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

Utiliser les protocoles de test (Assay Protocols) suivants pour procéder au test des échantillons sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**. Ces protocoles de DIV ont été spécifiquement validés avec les ELITE MGB Kits et l'instrument **ELITE InGenius** ou l'instrument **ELITE BeGenius** avec les matrices indiquées.

Tableau 5 Protocole de test pour le HIV1 ELITE MGB Kit

Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
Plasma	ELITE InGenius	HIV1 ELITE_PL_600_50	copies/mL / UI/mL	Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1,7 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITE BeGenius	HIV1 ELITE_Be_PL_600_50	copies/mL / UI/mL	Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL

Utiliser les protocoles de test (Assay Protocols) suivants pour procéder au test des échantillons sur l'instrument **MyGenius PRO**. Ces protocoles de DIV ont été spécifiquement validés avec les kits ELITE MGB et l'instrument **MyGenius PRO** avec les matrices indiquées.

Tableau 6 Assay Protocols (Protocoles de test) pour le HIV1 ELITE MGB Kit et l'instrument MyGenius PRO

Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
Plasma ACD ou EDTA	My Genius PRO	HIV1 ELITE_My_PL_IU_600_50	UI/mL	Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
		HIV1 ELITE_My_PL_cmL_600_50	copies/mL	Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL

NOTE!

Vérifier si le tube primaire et le volume de l'échantillon sont compatibles avec le ELITE InGenius, ELITE BeGenius ou MyGenius PRO, d'après le mode d'emploi de l'instrument.

Le volume de l'échantillon contenu dans un tube primaire varie selon le type de tube chargé. Se reporter au mode d'emploi du kit d'extraction pour obtenir de plus amples informations sur le paramétrage et l'exécution de la procédure d'extraction.

Si requis, 600 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube d'extraction (pour l'instrument ELITE InGenius) ou dans un tube Sarstedt de 2 mL (pour l'instrument ELITE BeGenius), et 660 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube Sarstedt de 2 mL (pour l'instrument MyGenius PRO).

NOTE!

Le pipetage des échantillons à partir du tube primaire dans le **tube d'extraction** ou le **tube Sarstedt de 2 mL** peut **entraîner une contamination**. Utiliser les pipettes appropriées et suivre toutes les recommandations indiquées à la section 7 AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS page 7.

Les acides nucléiques purifiés peuvent être laissés à température ambiante pendant 16 heures et conservés à -20 °C ou à une température plus basse pendant un mois maximum.

Se reporter au paragraphe « Substances potentiellement interférentes » de la section [12 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC ELITE InGenius, ELITE BeGenius et MyGenius PRO page 33](#) pour vérifier les informations concernant les substances interférentes.

Ne pas utiliser de plasma prélevé sur héparine, qui est un inhibiteur connu de la PCR.

Ne pas utiliser de plasma hémolytique car l'hémoglobine inhibe la réaction de PCR.

8.2 Calibrateurs et contrôles de la PCR

Une courbe d'étalonnage doit être générée et approuvée pour chaque lot de réactifs de PCR.

- Pour la courbe d'étalonnage, utiliser les quatre niveaux du **HIV1 ELITE Standard** inclus dans ce kit, avec les protocoles de test (Assay Protocols) **HIV1 ELITE_STD** ou **HIV1 ELITE_Be_STD** ou **HIV1 ELITE_My_STD**.

NOTE!

Les concentrations des étalons Q – PCR Standards sont exprimées en copies/réaction (10^5 copies/réaction, 10^4 copies/réaction, 10^3 copies/réaction, 10^2 copies/réaction). Se reporter au paragraphe « Incertitude de la courbe d'étalonnage » de la section 12 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC ELITE InGenius, ELITE BeGenius et MyGenius PRO page 33

Les résultats des contrôles de la PCR doivent être générés et approuvés pour chaque lot de réactifs de PCR.

- Pour le Contrôle positif, utiliser le **HIV1 - ELITE Positive Control** inclus dans ce kit, avec les protocoles de test (Assay Protocols) **HIV1 ELITE_PC** ou **HIV1 ELITE_Be_PC** ou **HIV1 ELITE_My_PC**.
- Pour le Contrôle négatif, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **HIV1 ELITE_NC** ou **HIV1 ELITE_Be_NC**, ou utiliser le **Negative Control** (non inclus dans ce kit) avec le protocole de test (Assay Protocol) **HIV1 ELITE_My_NC**.

NOTE!

Les **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** et **MyGenius PRO** permettent de générer et de stocker la courbe d'étalonnage et de valider les contrôles de la PCR pour chaque lot de réactifs de PCR. Les courbes d'étalonnage expirent au bout de **60 jours**, après quoi il est nécessaire d'effectuer à nouveau l'étalonnage. Les résultats des contrôles de la PCR expirent au bout de **15 jours**, après quoi il est nécessaire de réanalyser les contrôles positif et négatif.

Les calibrateurs et les contrôles de la PCR doivent être à nouveau analysés en cas de survenue de l'une des situations suivantes :

- Un nouveau lot de réactifs est utilisé,
- Les résultats de l'analyse du contrôle de qualité (se reporter au paragraphe suivant) sont en dehors des spécifications,
- Les instruments **ELITE InGenius**, **ELITE BeGenius** ou **MyGenius PRO** subissent une procédure de maintenance ou d'entretien majeure.

8.3 Contrôles de qualité

Il est recommandé de vérifier la procédure d'extraction et de PCR. Il est possible d'utiliser des échantillons archivés ou du matériel de référence certifié. Les contrôles externes doivent être utilisés conformément aux exigences des organismes d'accréditation locaux, régionaux et fédéraux, selon le cas.

9 PROCÉDURE AVEC LE ELITE InGenius

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

Tableau 7

ÉTAPE 1	Vérification de la préparation du système	
ÉTAPE 2	Paramétrage de la session d'analyse	A) Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])
		B) Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
		C) Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])
		D) Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
ÉTAPE 3	Examen et approbation des résultats	1) Validation de la courbe d'étalonnage
		2) Validation des résultats du Positive Control et du Negative Control
		3) Validation des résultats des échantillons
		4) Rapport des résultats de l'échantillon

9.1 ÉTAPE 1 – Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre l'instrument **ELITE InGenius** en marche et se connecter en mode « **CLOSED** » (FERMÉ),
- dans le menu « Calibration » (Étalonnage) de la page Home (Accueil), vérifier que les calibrateurs (**Q – PCR Standard**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PCR Mix** à utiliser. Si aucun calibrateur valide n'est disponible pour le lot de **PCR Mix**, effectuer un étalonnage comme décrit dans les sections suivantes,
- dans le menu « Controls » (Contrôles) de la page Home (Accueil), vérifier que les contrôles de PCR (**Positive Control, Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **PCR Mix**, analyser les contrôles de PCR comme décrit dans les sections suivantes,

- Sélectionner le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse, et utiliser les protocoles de test (Assay Protocols) fournis par EG SpA. (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).

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

9.2 ÉTAPE 2 - Paramétrage de la session d'analyse

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

- Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement]),
- Analyse d'étalonnage (« PCR Only » [PCR seulement]),
- Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement]).

Tous les paramètres requis sont inclus dans les Assay Protocols (Protocoles de test) disponibles sur l'instrument et sont chargés automatiquement lorsque le protocole de test est sélectionné.

NOTE!

Le ELITe InGenius peut être connecté au « Laboratory Information Server » (Serveur de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet de télécharger les informations relatives à la session d'analyse. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

Avant de paramétrer une analyse :

1. Décongeler les tubes de **HIV1 PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer **24 tests** dans des conditions optimisées (5 tests ou plus par session d'analyse). Agiter au vortex à basse vitesse pendant 10 secondes à trois reprises puis centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes et conserver sur de la glace ou un bloc réfrigéré.

NOTE!

Conserver le **PCR Mix** à l'abri de la lumière lors de la décongélation car ce réactif est photosensible.

2. Se munir des tubes de **RT EnzymeMix** nécessaires. Chaque tube permet d'effectuer **48 tests** dans des conditions optimisées (5 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

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

3. Préparer un tube de 2 mL (Sarstedt réf. 72.694.005, non inclus dans le kit) pour le **mélange réactionnel complet** et le marquer avec un marqueur permanent.
4. Calculer les volumes de **HIV1 PCR Mix** et **RT EnzymeMix** nécessaires à la préparation du **mélange réactionnel complet** en se basant sur le nombre d'échantillons (N) à analyser, comme décrit dans le tableau ci-dessous.

Tableau 8

Nombre d'échantillons (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL

5. Préparer le **mélange réactionnel complet** en transférant les volumes calculés des deux composants dans le tube de 2 mL marqué. Agiter au vortex à basse vitesse pendant 10 secondes à trois reprises, puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes et conserver le tube sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

Le **mélange réactionnel complet** peut être utilisé dans les **7 heures** s'il est conservé dans un bloc réfrigéré (pour 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse). Le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être conservé pour être réutilisé.

NOTE!

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

Pour paramétrer l'un des quatre types d'analyse, suivre les étapes ci-dessous tout en se reportant à la GUI :

Tableau 9

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Si requis, 600 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube d'extraction préalablement étiqueté. Le volume en excès sera laissé dans le tube d'extraction par le ELITE InGenius. Le volume en excès sera laissé dans le tube d'extraction par le ELITE InGenius. Décongeler les tubes de CPE nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes d'élution contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 1000 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 1000 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.
4	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres.	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres.
5	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
6	Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).
7	Sélectionner la position de chargement de l'échantillon en tant que « Primary tube » (Tube primaire) ou « Extraction Tube » (Tube d'extraction) dans la colonne « Sample Position » (Position de l'échantillon). Vérifier que le « Dilution factor » (Facteur de dilution) est « 1,7 ».	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'élution [ligne du bas]). Vérifier que le « Dilution factor » (Facteur de dilution) est « 1,7 ».
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

Tableau 9 (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
9	Charger le CPE et le mélange réactionnel complet sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du CPE et du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	Charger le mélange réactionnel complet sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du CPE et du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Charger les PCR Cassettes (Cassettes de PCR), les tubes d'élution, les cartouches d'extraction ELITE InGenius SP 1000, et tous les consommables requis et échantillons à extraire.	Charger les PCR Cassettes (Cassettes de PCR) et les tubes d'élution avec les échantillons extraits.
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
15	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
16	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

Tableau 10

	C. Analyse d'étalonnage (« PCR Only » [PCR seulement])	D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (« PCR Only » [PCR seulement])
1	Décongeler les tubes de Q-PCR Standard nécessaires (Cal1 : Q-PCR Standards 10 ² , Cal2 : Q-PCR Standards 10 ³ , Cal3 : Q-PCR Standards 10 ⁴ , Cal4 : Q-PCR Standards 10 ⁵) à température ambiante pendant 30 minutes. Agiter au vortex à basse vitesse pendant 10 secondes à trois reprises, puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes et conserver le tube sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Positive Control (Contrôle positif) à température ambiante pendant 30 minutes. Agiter au vortex à basse vitesse pendant 10 secondes à trois reprises, puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes et conserver le tube sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Préparer le Negative Control en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élution) fourni avec le ELITE InGenius SP 1000 Consumable Set.
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 1000 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 1000 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.
4	Pour le Q-PCR Standard, attribuer la « Track » (Position), sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles ») et saisir le numéro de lot et la date de péremption du réactif.	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »). Saisir le numéro de lot et la date de péremption du Contrôle positif et de l'eau de qualité biologie moléculaire.
5	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).

Tableau 10 (continued)

	C. Analyse d'étalonnage (« PCR Only » [PCR seulement])	D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (« PCR Only » [PCR seulement])
6	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'élution [ligne du bas]).	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'élution [ligne du bas]).
7	Charger le mélange réactionnel complet sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	Charger le mélange réactionnel complet sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9	Vérifier les cônes dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les portoirs de cônes si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	Charger les PCR Cassettes (Cassettes de PCR) et les tubes de Q-PCR Standard.	Charger les PCR Cassettes (Cassettes de PCR), le Contrôle positif et le Contrôle négatif.
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
14	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

Au terme de la session d'analyse, le **ELITE InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

NOTE!

À la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le **tube d'élution** doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 ± 10 °C pendant un mois maximum. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

NOTE!

Le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 7 heures (pour 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et pendant la durée nécessaire au démarrage d'une troisième session d'analyse). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante. Les résultats quantitatifs du mélange réactionnel complet **ne peuvent pas** être stockés pour être réutilisés.

NOTE!

À la fin de l'analyse, les étalons **Q – PCR Standards** restants peuvent être retirés de l'instrument, bouchés et conservés à -20 °C ou à une température plus basse. Éviter de renverser les étalons **Q - PCR Standards**.

NOTE!

Les étalons **Q - PCR Standard** peuvent être utilisés pendant 2 sessions d'analyse distinctes de 2 heures chacune.

NOTE!

À la fin de l'analyse, le **Contrôle positif** restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C ou à une température plus basse. Le Contrôle négatif restant doit être jeté.

NOTE!

Le **Contrôle positif** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

NOTE!

À la fin de l'analyse, la **PCR Cassette** (Cassette de PCR) et les consommables doivent être éliminés conformément à toutes les réglementations gouvernementales et environnementales. Éviter de renverser les produits de la réaction.

9.3 ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

Le **ELiTe InGenius** surveille les signaux de fluorescence cibles et de contrôle interne pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du Assay Protocol (Protocole de test) pour générer des courbes de PCR qui sont ensuite interprétées en résultats.

At the end of the run, the "Results Display" screen is automatically shown. Cet écran présente les résultats et les informations de l'analyse. À partir de cet écran, les résultats peuvent être approuvés et les rapports imprimés ou enregistrés (« Sample Report » [Rapport échantillons] ou « Track Report » [Rapport des positions]). Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

NOTE!

Le **ELiTe InGenius** peut être connecté au « Laboratory Information System » (Système de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet de charger les résultats de la session d'analyse pour les transmettre au centre de données du laboratoire. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

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

1. Validation de la courbe d'étalonnage,
2. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif,
3. validation des résultats des échantillons,
4. rapport des résultats de l'échantillon.

9.3.1 Validation de la courbe d'étalonnage

Le **ELiTe InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible des réactions des calibrateurs avec les paramètres du Assay Protocol (Protocole de test) **ELiTe STD**. Les valeurs Ct versus la concentration génèrent la courbe d'étalonnage.

Les courbes d'étalonnage, spécifiques au lot de réactifs de PCR, sont enregistrées dans la base de données (Calibration [Étalonnage]). Elles peuvent être visualisées et approuvées par des utilisateurs « Administrator » (Administrateur) ou « Analyst » (Analyste) en suivant les instructions de la GUI.

La courbe d'étalonnage expire **au bout de 60 jours**.

NOTE!

Si la courbe d'étalonnage ne répond pas aux critères d'acceptation, le message « Failed » (Échec) s'affiche dans l'écran « Calibration » (Étalonnage). Dans ce cas, les résultats ne peuvent pas être approuvés et les réactions d'amplification du calibrateur doivent être répétées. De plus, si des échantillons ont été inclus dans l'analyse, ceux-ci ne sont pas quantifiés et doivent également être répétés pour générer des résultats quantitatifs.

9.3.2 Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif d'amplification

Le **ELiTe InGenius software** interprète les résultats de la PCR pour la cible des réactions du Contrôle positif et du Contrôle négatif avec les paramètres des protocoles de test (Assay Protocols) **ELiTe_PC** et **ELiTe_NC**. Les valeurs Ct résultantes sont converties en concentration et utilisées pour vérifier le système (lots de réactifs et instrument).

Les résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif, spécifiques au lot de réactifs de PCR, sont enregistrés dans la base de données (Controls [Contrôles]). Ils peuvent être visualisés et approuvés par des utilisateurs « Administrator » (Administrateur) ou « Analyst » (Analyste) en suivant les instructions de la GUI.

Les résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif expirent **au bout de 15 jours**.

Le **ELITE InGenius Software** traite les résultats du Contrôle positif (Positive Control) et du Contrôle négatif (Negative Control) et génère des Graphiques de contrôle (Control Charts). L'approbation du Contrôle positif est basée sur l'évaluation de la quantité logarithmique obtenue qui doit se situer dans la plage de quantité logarithmique attendue (Graphique PC). Ceci permet de s'assurer que les performances du système sont conformes aux critères d'acceptation. Le deuxième graphique (Graphique L-J) est exclusivement consacré à la surveillance de la tendance du Contrôle positif au cours du temps. Pour plus de détails, se reporter au manuel de l'instrument.

NOTE!

si les résultats du Contrôle positif ou du Contrôle négatif ne satisfont pas les critères d'acceptation, le message « Failed » (Échec) s'affiche dans l'écran « Controls » (Contrôles). Dans ce cas, les résultats ne peuvent pas être approuvés et les analyses du Contrôle Positif ou du Contrôle Négatif doivent être répétées.

NOTE!

si le résultat du Contrôle positif ou du Contrôle négatif n'est pas valide et que des échantillons ont été inclus dans la même analyse, les échantillons peuvent être approuvés mais leurs résultats ne sont pas validés. Dans ce cas, le(s) contrôle(s) en échec et les échantillons doivent tous être répétés.

9.3.3 Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELITE InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la sonde du VIH-1 (canal **HIV1**) et le Contrôle interne (canal **IC**) avec les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) **HIV1 ELITE_PL_600_50**. Les valeurs Ct des cibles résultantes sont converties en concentration.

Les résultats sont présentés dans l'écran « Results Display » (Affichage des résultats).

Les résultats de l'échantillon peuvent être approuvés lorsque les trois conditions du tableau ci-dessous sont remplies.

Tableau 11

1) Courbe d'étalonnage	Statut
HIV1 Q-PCR Standard	APPROUVÉ
2) Contrôle positif	Statut
HIV1 Positive Control	APPROUVÉ
3) Contrôle négatif	Statut
HIV1 Negative Control	APPROUVÉ

Les résultats des échantillons sont automatiquement interprétés par le **ELITE InGenius Software** à l'aide des paramètres du protocole de test (Assay Protocol). Les messages des résultats possibles d'un échantillon sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Pour chaque échantillon, le système génère une combinaison des messages suivants afin de spécifier si les ARN de l'agent pathogène sont détectés ou non détectés.

Tableau 12

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
HIV1:RNA Detected, quantity equal to "XXX" copies / mL or IU / mL (HIV1:ARN détecté, quantité égale à « XXX » copies/mL ou UI/mL).	L'ARN du VIH-1 a été détecté dans l'échantillon dans la plage de mesure du test ; sa concentration est celle affichée.
HIV1:RNA Detected, quantity below "LLOQ" copies / mL or IU / mL (HIV1:ARN détecté, quantité inférieure à « LLOQ » copies/mL ou UI/mL).	L'ARN du VIH-1 a été détecté dans l'échantillon ; sa concentration est inférieure à la limite inférieure de quantification du test.
HIV1:RNA Detected, quantity beyond "ULOQ" copies / mL or IU / mL (HIV1:ARN détecté, quantité supérieure à « ULOQ » copies/mL ou UI/mL).	L'ARN du VIH-1 a été détecté dans l'échantillon ; sa concentration est supérieure à la limite supérieure de quantification du test.
HIV1:RNA Not detected or below the "LoD" copies / mL or IU / mL (HIV1:ARN non détecté ou inférieur à « LoD » copies/mL ou UI/mL).	L'ARN du VIH-1 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARN cible ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Invalid-Retest Sample (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon)	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Contrôle interne (en raison, par exemple, d'une extraction incorrecte, d'un transfert d'inhibiteurs). Le test doit être répété.

Échantillons rapportés comme « Invalid - Retest Sample » (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon) : dans ce cas, l'ARN du Contrôle Interne n'a pas été efficacement détecté, ce qui peut être dû à des problèmes lors des étapes de prélèvement de l'échantillon, d'extraction, de transcription inverse ou de PCR (par ex. échantillonnage incorrect, dégradation ou perte d'ARN pendant l'extraction ou inhibiteurs dans l'éluat), ce qui peut générer des résultats incorrects.

S'il reste un volume d'éluat suffisant, l'éluat peut être à nouveau testé (pur ou dilué), par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR seulement). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'un nouvel échantillon en utilisant le mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) (se reporter à [15 PROBLÈMES ET SOLUTIONS page 50](#)).

Les échantillons rapportés comme « HIV1:RNA Not Detected or below "LoD" copies / mL or IU / mL (HIV1:ARN non détecté ou inférieur à « LoD » copies/mL ou UI/mL) » sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter l'ARN du VIH-1. Dans ce cas, l'échantillon peut être négatif pour l'ARN du VIH-1 ou l'ARN du VIH-1 est présent à une concentration inférieure à la limite de détection du test (se reporter à la section [12 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC ELITe InGenius, ELITe BeGenius et MyGenius PRO page 33](#)).

Les échantillons positifs pour l'ARN du HIV1 à une concentration inférieure à la limite de détection (et à la limite inférieure de quantification) de l'analyse, s'ils sont détectés, sont rapportés comme « HIV1: RNA Detected, quantity below "LLOQ" copies/mL or IU/mL » (HIV1:ARN détecté, quantité inférieure à « LLOQ » copies/mL ou UI/mL) (se reporter à la section [12 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC ELITe InGenius, ELITe BeGenius et MyGenius PRO page 33](#)).

Les échantillons positifs pour l'ARN du VIH-1 dans la plage de mesure linéaire (se reporter à la section [12 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC ELITe InGenius, ELITe BeGenius et MyGenius PRO page 33](#)) sont détectés et rapportés comme « HIV1:RNA Detected, quantity equal to "XXX" copies / mL or IU / mL » (HIV1:ARN détecté, quantité égale à « XXX » copies/mL ou UI/mL).

Les échantillons positifs pour l'ARN du VIH-1 qui sont au-dessus de la limite supérieure de quantification sont rapportés comme « HIV1: RNA Detected, quantity beyond "ULOQ" copies/mL or IU/mL (HIV1: ARN détecté, quantité supérieure à « ULOQ » copies/mL ou UI/mL) et ne sont pas appropriés pour une quantification. Si nécessaire, l'échantillon peut être dilué avant l'extraction ou la PCR pour être testé à nouveau afin de générer des résultats compris dans la plage de mesure linéaire du test.

NOTE!

les résultats obtenus avec ce test doivent être interprétés en association avec l'ensemble des observations cliniques pertinentes et des résultats du laboratoire.

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

9.3.4 Rapport des résultats de l'échantillon

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

Le « Sample Report » (Rapport échantillons) présente les détails des résultats par échantillon sélectionné (SID).

Le « Track Report » (Rapport des positions) présente les détails des résultats par position sélectionnée.

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

10 PROCÉDURE AVEC LE ELiTe BeGenius

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

Tableau 13

ÉTAPE 1	Vérification de la préparation du système	
ÉTAPE 2	Paramétrage de la session d'analyse	A) Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])
		B) Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
		C) Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])
		D) Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
ÉTAPE 3	Examen et approbation des résultats	1) Validation de la courbe d'étalonnage
		2) Validation des résultats du Positive Control et du Negative Control
		3) Validation des résultats des échantillons
		4) Rapport des résultats de l'échantillon

10.1 ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre l'instrument **ELiTe BeGenius** en marche et se connecter en mode « **CLOSED** » (FERMÉ),
- dans le menu « Calibration » (Étalonnage) de la page Home (Accueil), vérifier que les calibrateurs (**Q - PCR Standard**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PCR Mix** à utiliser. Si aucun calibrateur valide n'est disponible pour le lot de **PCR Mix**, effectuer un étalonnage comme décrit dans les sections suivantes,
- dans le menu « Controls » (Contrôles) de la page Home (Accueil), vérifier que les contrôles de PCR (**Positive Control, Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **PCR Mix**, analyser les contrôles de PCR comme décrit dans les sections suivantes,
- sélectionner le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et utiliser les protocoles de test fournis par EG SpA (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).

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

10.2 ÉTAPE 2 – Paramétrage de la session d'analyse

Le **HIV1 ELITE MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITE BeGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

- Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- Analyse d'échantillons élués (« PCR Only » [PCR seulement]),
- Analyse d'étalonnage (« PCR Only » [PCR seulement]),
- Analyse du Positive Control et du Negative Control (« PCR Only » [PCR seulement]).

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

NOTE!

Le **ELITE BeGenius** peut être connecté au « Laboratory Information System » (système de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet de télécharger les informations relatives à la session d'analyse. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

Avant de paramétrer une analyse :

- Décongeler les tubes de **PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer **24 tests** dans des conditions optimisées (5 tests ou plus par session d'analyse). Agiter au vortex à basse vitesse pendant 10 secondes à trois reprises puis centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes et conserver sur de la glace ou un bloc réfrigéré.

NOTE!

Conserver le **PCR Mix** à l'abri de la lumière lors de la décongélation car ce réactif est photosensible.

- Se munir des tubes de **RT EnzymeMix** nécessaires. Chaque tube permet d'effectuer **48 tests** dans des conditions optimisées (5 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

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

- Préparer un tube de 2 mL (Sarstedt réf. 72.694.005, non inclus dans le kit) pour le **mélange réactionnel complet** et le marquer avec un marqueur permanent.
- Calculer les volumes de **PCR Mix** et **RT EnzymeMix** nécessaires à la préparation du **mélange réactionnel complet** en se basant sur le nombre d'échantillons (N) à analyser, comme décrit dans le tableau suivant.

Tableau 14

Nombre d'échantillons (N)	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
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

- Préparer le **mélange réactionnel complet** en transférant les volumes calculés des deux composants dans le tube de 2 mL marqué. Agiter au vortex à basse vitesse pendant 10 secondes à trois reprises, puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes et conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

Le **mélange réactionnel complet** peut être utilisé dans les **7 heures** s'il est conservé dans un bloc réfrigéré (pour 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse). Le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être conservé pour être réutilisé.

NOTE!

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

Pour paramétrer l'un des quatre types d'analyse, suivre les étapes ci-dessous tout en se reportant à la GUI.

Tableau 15

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Si requis, transférer 600 µL d'échantillon dans un tube Sarstedt de 2 mL (non fourni) préalablement étiqueté. Le volume en excès sera laissé dans le tube Sarstedt de 2 mL par le ELiTe BeGenius. Décongeler les tubes de CPE nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Si nécessaire, décongeler les tubes d'élution contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Retirer tous les « Racks » de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
4	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « Extract + PCR » (Extraction + PCR). Remarque : Lorsque des tubes secondaires « 2 mL Tubes » (Tubes de 2 mL) sont chargés, utiliser les adaptateurs bleus pour le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
5	Charger les échantillons dans le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons).	Charger les échantillons dans le « Elution Rack ».
6	Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 5 » (L5). Si nécessaire, pour chaque « Position », insérer le « Sample ID » (ID échantillon) (SID). Si des tubes secondaires sont chargés, les marquer « Tube de 2 mL ». Si les tubes secondaires ne portent pas de codes-barres, saisir manuellement le « Sample ID » (ID échantillon).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (Volume d'élution de l'extraction).
7	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 600 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution extrait) est de 50 µL.	non applicable
9	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).

Tableau 15 (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6 en utilisant la « Lane 4 » (L4).	En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6 en utilisant la « Lane 4 » (L4).
12	Charger les « Elution tubes » (Tubes d'élution) dans le « Elution Rack » (Rack d'élution) (les tubes d'élution peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité).	non applicable
13	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure en utilisant la « Lane 2 » (L2).	non applicable
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	non applicable
15	Charger le CPE et le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).
16	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque réactif PCR Mix et/ou CPE, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque réactif PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
17	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
18	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
19	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
20	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » dans la « Inventory Area » (Zone de stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » dans la « Inventory Area » (Zone de stockage).
21	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
22	Charger le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITe InGenius SP 1000 » et les consommables d'extraction requis.	non applicable
23	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
24	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

Tableau 16

	C. Analyse d'étalonnage (« PCR Only » [PCR seulement])	D. Analyse du Positive Control et du Negative Control (« PCR Only » [PCR seulement])
1	Décongeler les Q-PCR Standard tubes nécessaires (Cal1 : Q-PCR Standards 10^2 , Cal2 : Q-PCR Standards 10^3 , Cal3 : Q-PCR Standards 10^4 , Cal4 : Q-PCR Standards 10^5) pendant 30 minutes à température ambiante. Agiter au vortex à basse vitesse pendant 10 secondes à trois reprises puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes et conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Positive Control (Contrôle positif) à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Préparer le Negative Control (Contrôle négatif) en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élution) fourni avec le ELITE InGenius SP 1000 Consumable Set.
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
4	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
5	Charger les tubes de Q-PCR Standard dans le « Elution Rack » (Rack d'élution).	Charger les tubes de Positive Control (Contrôle positif) et de Negative Control (Contrôle négatif) dans le « Elution Rack » (Rack d'élution).
6	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
7	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
9	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
10	Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).
11	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

Tableau 16 (continued)

	C. Analyse d'étalonnage (« PCR Only » [PCR seulement])	D. Analyse du Positive Control et du Negative Control (« PCR Only » [PCR seulement])
15	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » dans la « Inventory Area » (Zone de stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » dans la « Inventory Area » (Zone de stockage).
16	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
17	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
18	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

Au terme de la session d'analyse, le **ELITE BeGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

NOTE!

à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le **tube d'élution** doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 ± 10 °C pendant un mois maximum. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

NOTE!

Le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 7 heures (pour 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et pendant la durée nécessaire au démarrage d'une troisième session d'analyse). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante. Le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être conservé pour être réutilisé.

NOTE!

À la fin de l'analyse, le **Q-PCR Standards** restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C ou à une température plus basse. Éviter de renverser les étalons Q-PCR Standards.

NOTE!

Les étalons **Q-PCR Standard** peuvent être utilisés pendant 2 sessions d'analyse distinctes de 2 heures chacune.

NOTE!

À la fin de l'analyse, le **Positive Control** restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C ou à une température plus basse. Éviter de renverser les étalons Positive Control. Le Contrôle négatif restant doit être jeté.

NOTE!

Le **Contrôle positif** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

NOTE!

À la fin de l'analyse, la **PCR Cassette** (Cassette de PCR) et les consommables doivent être éliminés conformément à toutes les réglementations gouvernementales et environnementales. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

10.3 ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

Le **ELITE BeGenius** surveille les signaux de fluorescence cibles et de contrôle interne pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du Assay Protocol (Protocole de test) pour générer des courbes de PCR qui sont ensuite interprétées en résultats.

À la fin de l'analyse, l'écran « Results Display » (Affichage des résultats) s'affiche automatiquement. Cet écran présente les résultats et les informations de l'analyse. À partir de cet écran, les résultats peuvent être approuvés et les rapports imprimés ou enregistrés (« Sample Report » [Rapport échantillons] ou « Track Report » [Rapport des positions]). Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

NOTE!

Le **ELITe BeGenius** peut être connecté au « Laboratory Information System » (Système de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet de charger les résultats de la session d'analyse pour les transmettre au centre de données du laboratoire. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

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

1. Validation de la courbe d'étalonnage,
2. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif,
3. validation des résultats des échantillons,
4. rapport des résultats de l'échantillon.

NOTE!

Se reporter au paragraphe correspondant relatif à la **procédure avec le ELITe InGenius** pour connaître les détails.

11 PROCÉDURE MyGenius PRO

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

Tableau 17

ÉTAPE 1	Vérification de la préparation du système	
ÉTAPE 2	Paramétrage de la session d'analyse	A) Session d'analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])
		B) Session d'analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])
		C) Session d'analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement]).
ÉTAPE 3	Examen et approbation des résultats	1) Validation de la courbe d'étalonnage
		2) Validation des résultats du Positive Control et du Negative Control
		3) Validation des résultats des échantillons
		4) Rapport des résultats de l'échantillon

11.1 ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- allumer MyGenius PRO et se connecter ; l'unité démarre en mode VEILLE.
- dans le menu « Calibration » (Étalonnage) de l'écran Home (Accueil), vérifier que les calibrateurs (**Q - PCR Standard**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PCR Mix** à utiliser. Si aucun calibrateur valide n'est disponible pour le lot de **PCR Mix**, effectuer un étalonnage comme décrit dans les sections suivantes,
- dans le menu « Controls » (Contrôles) de l'écran Home (Accueil), vérifier que les contrôles de PCR (**Positive Control, Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **PCR Mix**, analyser les contrôles de PCR comme décrit dans les sections suivantes,

- suivre les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et utiliser les protocoles de test fournis par EG SpA (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).

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

11.2 ÉTAPE 2 – Configuration du flux de travail sur le système

Le **HIV1 ELITe MGB Kit** peut être utilisé sur le **MyGenius PRO** pour effectuer les opérations suivantes :

- Session d'analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- Session d'analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement]),
- Session d'analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement]).

Tous les paramètres requis sont inclus dans les protocoles de test disponibles sur l'instrument et sont chargés automatiquement lorsque le protocole de test est sélectionné.

NOTE!

le **MyGenius PRO** peut être connecté au « Laboratory Information System » (système de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet de télécharger les informations relatives au flux de travail. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

Avant le paramétrage d'une session d'analyse :

1. Décongeler les tubes de **PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer **24 tests** (5 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.
2. Se munir des tubes de **RT EnzymeMix II** nécessaires. Chaque tube permet d'effectuer **48 tests**. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.
3. Préparer un tube de 2 mL (Sarstedt réf. 72.694.005, non inclus dans le kit) pour le **mélange réactionnel complet** et le marquer avec un marqueur permanent.
4. Calculer les volumes de **PCR Mix** et **RT EnzymeMix II** nécessaires à la préparation du **mélange réactionnel complet** en se basant sur le nombre d'échantillons (N) à analyser, comme décrit dans le tableau suivant.

Nombre de tests (N)	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
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

NOTE!

Si le nombre de réactions est supérieur à 24 tests, préparer un tube de 2 mL supplémentaire contenant le nombre de réactions requis, en suivant les instructions fournies dans le tableau ci-dessus.

5. Préparer le **mélange réactionnel complet** en transférant les volumes calculés des deux composants dans le tube de 2 mL étiqueté. Agiter au vortex à basse vitesse pendant 10 secondes à trois reprises, puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes et conserver le tube sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

Le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant 7 heures maximum (pour 2 sessions d'analyse de 7 heures chacune). Le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être conservé pour être réutilisé.

NOTE!

Conserver le **PCR Mix** à l'abri de la lumière lors de la décongélation, car ce réactif est photosensible.

NOTE!

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

Pour paramétrer l'un des trois types de session d'analyse, suivre les étapes ci-dessous tout en se reportant à la GUI :

	A. Session d'analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Session d'analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	C. Session d'analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Si le tube primaire est compatible avec les racks MyGenius PRO, insérer le tube contenant les échantillons dans les racks ; si cela est impossible transférer 660 µL d'échantillon dans un tube secondaire préalablement étiqueté (2 mL). Décongeler les tubes d'IC MAXI nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes. Chaque tube permet d'effectuer 72 tests.	Décongeler les tubes de Q-PCR Standard nécessaires (Cal1 : Q-PCR Standard 102, Cal2 : Q-PCR Standard 103, Cal3 : Q-PCR Standard 104, Cal4 : Q-PCR Standard 105) à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Positive Control à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Centrifuger les tubes de Contrôle négatif pendant 5 secondes.
2	Si l'instrument est connecté au LIS, les codes-barres des échantillons sont automatiquement lus et reconnus par l'instrument MyGenius PRO lorsqu'ils sont placés dans la zone des échantillons. Si l'instrument n'est pas connecté au LIS, assigner manuellement les échantillons en utilisant la fonction ASSIGN TEST (Assigner test) ou ASSIGN SAMPLE (Assigner échantillon) dans la page « Sample List » (Liste des échantillons) de l'interface graphique, avant de les charger dans l'instrument. Ces fonctions permettent également d'attribuer le protocole de test approprié à chaque échantillon.	Charger le PCR-Mix et les tubes de Q-PCR Standard dans le carrousel à réactifs réfrigéré.	Charger le PCR-Mix et les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif dans le carrousel à réactifs réfrigéré.

	A. Session d'analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Session d'analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	C. Session d'analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
3	En mode VEILLE , vérifier qu'il y a suffisamment de consommables pour effectuer le test et que les niveaux de déchets solides et liquides sont adéquats pour le fonctionnement de l'instrument. Si nécessaire, charger les consommables requis dans les tiroirs appropriés et vider le bac à déchets et le réservoir de liquide. Pour connaître les procédures de chargement détaillées, consulter le manuel d'utilisation de l'instrument.	En mode VEILLE , vérifier qu'il y a suffisamment de consommables pour effectuer le test et que les niveaux de déchets solides et liquides sont adéquats pour le fonctionnement de l'instrument. Si nécessaire, charger les consommables requis dans les tiroirs appropriés et vider le bac à déchets et le réservoir de liquide. Pour connaître les procédures de chargement détaillées, consulter le manuel d'utilisation de l'instrument.	En mode VEILLE , vérifier qu'il y a suffisamment de consommables pour effectuer le test et que les niveaux de déchets solides et liquides sont adéquats pour le fonctionnement de l'instrument. Si nécessaire, charger les consommables requis dans les tiroirs appropriés et vider le bac à déchets et le réservoir de liquide. Pour connaître les procédures de chargement détaillées, consulter le manuel d'utilisation de l'instrument.
4	Appuyer sur Start (Début) dans la page Home (Accueil) et attendre que l'instrument passe à l'état « Préparation » puis « Opération ».	Appuyer sur Start (Début) dans la page Home (Accueil) et attendre que l'instrument passe à l'état « Préparation » puis « Opération ».	Appuyer sur Start (Début) dans la page Home (Accueil) et attendre que l'instrument passe à l'état « Préparation » puis « Opération ».
5	Charger le PCR Mix dans le carrousel à réactifs réfrigéré.	Sélectionner le bouton « Calibration » (Étalonnage) dans l'écran « Home » (Accueil)	Sélectionner le bouton « Controls » (Contrôles) dans l'écran « Home » (Accueil)
6	Réserver l'ouverture de la porte de la zone de l'échantillonneur automatique et charger les échantillons et les tubes IC MAXI.	Sélectionner dans la page « Calibration » (Étalonnage) le tube de Q-PCR Standard chargé à l'étape 2, puis appuyer sur « Order » (Commander).	Sélectionner dans la page « Control » (Contrôle) le Positive Control et Negative Control chargé à l'étape 2, puis appuyer sur « Order » (Commander).
7	Fermer la porte de l'échantillonneur automatique pour lancer la session d'analyse.		

Dès l'obtention d'un résultat, l'instrument **MyGenius PRO** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, ainsi que d'enregistrer le rapport final.

NOTE!

À la fin de la session d'analyse, les étalons **Q - PCR Standard** restants peuvent être retirés de l'instrument, bouchés et conservés à -20 °C ou à une température plus basse. Éviter de renverser les étalons Q - PCR Standard.

NOTE!

Le **Q - PCR Standard** peut être utilisé pour 2 étalonnages en les laissant à bord de l'instrument pendant un maximum de 2 heures pour chaque étalonnage.

NOTE!

À la fin de la session d'analyse, le **Positive Control** restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C ou à une température plus basse. Éviter de renverser le **Positive Control**. Le **Negative Control** restant doit être jeté.

NOTE!

Le **Positive Control** peut être utilisé pour 4 étalonnages en les laissant à bord de l'instrument pendant un maximum de 3 heures pour chaque étalonnage.

NOTE!

Si nécessaire ou lorsque l'instrument l'exige, retirer du tiroir de l'instrument la **PCR Cassette** et les autres consommables qui doivent être éliminés conformément à toutes les réglementations gouvernementales et environnementales. Éviter de renverser les produits de la réaction.

NOTE!

MyGenius PRO peut être connecté au « Laboratory Information System » (système de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet de télécharger les informations relatives à la session d'analyse. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

11.3 ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

L'instrument **MyGenius PRO** surveille les signaux de fluorescence de la cible et du Contrôle interne pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) pour générer des courbes de PCR qui sont ensuite interprétées en résultats.

Au terme de l'analyse de chaque échantillon, les résultats peuvent être consultés dans l'écran « Résultats », qui affiche les résultats et les informations relatives aux échantillons. À partir de cet écran, il est possible d'approuver les résultats ou d'enregistrer les rapports. Voir le manuel de l'instrument pour plus de détails.

MyGenius PRO génère les résultats à l'aide du **HIV1 ELITE MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

1. Validation de la courbe d'étalonnage,
2. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif,
3. validation des résultats des échantillons,
4. rapport des résultats de l'échantillon.

Validation de la courbe d'étalonnage

Le logiciel **MyGenius PRO Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible des réactions des calibrateurs avec les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) **HIV1 ELITE_My_STD**. Les valeurs Ct versus la concentration génèrent la courbe d'étalonnage.

Les courbes d'étalonnage, spécifiques au lot de réactifs de PCR, sont enregistrées dans la base de données (Calibrations [Étalonnages]). Elles peuvent être visualisées et approuvées par l'utilisateur, en sélectionnant l'étalonnage d'intérêt et la section « View chart » (Afficher graphique).

La courbe d'étalonnage expire **au bout de 60 jours**.

NOTE!

si la courbe d'étalonnage ne répond pas aux critères d'acceptation, le message « Error » (Erreur) s'affiche dans l'écran « Calibrations » (Étalonnages). Dans ce cas, les résultats ne peuvent pas être approuvés et les réactions d'amplification des calibrateurs doivent être répétées. De plus, si des échantillons ont été inclus dans la session d'analyse, ils ne sont pas quantifiés : dans ce cas, après réitération de l'étalonnage, tous les résultats doivent être interprétés et approuvés (voir la section dédiée aux résultats des échantillons).

Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif d'amplification

Le logiciel **MyGenius PRO Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible du Contrôle positif et le Contrôle interne (canal IC), et pour la cible des réactions du Contrôle négatif, avec les paramètres des protocoles de test (Assay Protocols) **HIV1 ELITE_My_PC** et **HIV1 ELITE_My_NC**. Les valeurs Ct résultantes sont converties en concentration et utilisées pour vérifier le système (lots de réactifs et instrument).

Les résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif, spécifiques au lot de réactifs de PCR, sont enregistrés dans la base de données (Controls [Contrôles]). Ils peuvent être visualisés et approuvés par l'utilisateur, en sélectionnant le contrôle d'intérêt et la section « View chart » (Afficher graphique).

Les résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif expirent **au bout de 15 jours**.

Le logiciel **MyGenius PRO Software** traite les résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif et génère des Control Charts (Graphiques de contrôle). Les résultats sont analysés par le logiciel pour s'assurer que les performances du système sont conformes aux critères d'acceptation, indiqués dans les tracés des graphiques de contrôle. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

NOTE!

si les résultats du Contrôle positif ou du Contrôle négatif ne satisfont pas les critères d'acceptation, le message « Error » (Erreur) s'affiche sur l'écran « Controls » (Contrôles). Dans ce cas, les résultats ne peuvent pas être approuvés et les analyses du Contrôle Positif ou du Contrôle Négatif doivent être répétées.

NOTE!

si le résultat du Contrôle positif ou du Contrôle négatif n'est pas valide et que des échantillons ont été inclus dans la même session d'analyse, les échantillons ne peuvent pas être approuvés. Dans ce cas, après répétition de l'analyse des contrôles, tous les résultats doivent être interprétés et approuvés (voir la section dédiée aux résultats des échantillons).

Validation des résultats de l'échantillon

Le **MyGenius PRO Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible (canal **HIV1**) et le Contrôle interne (canal **IC**) avec les paramètres de protocole de test (Assay Protocol) **HIV1 ELITE_My_PL_IU_600_50** et **HIV1 ELITE_My_PL_cmL_600_50**. Les valeurs Ct des cibles résultantes sont converties en concentration.

Les résultats sont présentés dans la section « Results » (Résultats).

Les résultats de l'échantillon peuvent être approuvés lorsque les trois conditions du tableau ci-dessous sont remplies.

1) Courbe d'étalonnage	Statut
HIV1 Q-PCR Standard	APPROUVÉ
2) Contrôle positif	Statut
HIV1 Positive Control	APPROUVÉ
3) Contrôle négatif	Statut
HIV1 Negative Control	APPROUVÉ

Les résultats des échantillons sont automatiquement interprétés par le logiciel **MyGenius PRO Software** en utilisant des paramètres de protocole de test (Assay Protocol), si les résultats de l'étalonnage et des contrôles correspondants sont approuvés. En l'absence d'étalonnages et de contrôles valides et approuvés lors de l'obtention de résultats d'échantillons, ces dits échantillons ne peuvent pas être interprétés et approuvés : dans ce cas, les étalonnages et les contrôles doivent impérativement être approuvés, puis chaque échantillon doit être interprété dans la section « sample list » (liste des échantillons) et approuvés dans la section « Results » (Résultats) en utilisant les boutons dédiés.

Les messages des résultats possibles d'un échantillon sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Pour chaque échantillon, le système rapporte une combinaison des messages suivants spécifiant si les ADN de l'agent pathogène sont détectés ou non détectés.

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
HIV1:RNA DETECTED, QUANTITY EQUAL TO XXX COPIES/ML OR IU/ML (HIV1:ARN DÉTECTÉ, QUANTITÉ ÉGALE À XXX COPIES/ML OU UI/ML).	L'ARN du VIH-1 a été détecté dans l'échantillon dans la plage de mesure du test ; sa concentration est celle affichée.
HIV1:RNA DETECTED, QUANTITY BELOW "LLOQ" COPIES/ML OR IU/ML (HIV1:ARN DÉTECTÉ, QUANTITÉ INFÉRIEURE À « LLOQ » COPIES/ML OU UI/ML).	L'ARN du VIH-1 a été détecté dans l'échantillon ; sa concentration est inférieure à la limite inférieure de quantification de l'analyse.

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
HIV1:RNA DETECTED, QUANTITY BEYOND "ULOQ" COPIES/ML OR IU/ML (HIV1:ARN DÉTECTÉ, QUANTITÉ SUPÉRIEURE À « ULOQ » COPIES/ML OU UI/ML).	L'ARN du VIH-1 a été détecté dans l'échantillon ; sa concentration est supérieure à la limite supérieure de quantification de l'analyse.
HIV1:RNA NOT DETECTED OR BELOW "LOD" COPIES/ML OR IU/ML (HIV1:ARN NON DÉTECTÉ OU INFÉRIEUR À « LOD » COPIES/ML OU UI/ML)	L'ARN du VIH-1 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARN du HIV1 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
INVALID - RETEST SAMPLE (NON VALIDE - TESTER À NOUVEAU L'ÉCHANTILLON).	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Contrôle Interne (en raison, par exemple, d'une extraction incorrecte ou d'un transfert d'inhibiteurs). Le test doit être répété.

Échantillons rapportés comme « INVALID - RETEST SAMPLE » (NON VALIDE - TESTER À NOUVEAU L'ÉCHANTILLON) : dans ce cas, l'ADN du Contrôle interne n'a pas été efficacement détecté, ce qui peut être dû à des problèmes lors des étapes de prélèvement de l'échantillon, d'extraction ou de PCR (par ex. prélèvement incorrect de l'échantillon, dégradation ou perte d'ADN pendant l'extraction ou inhibiteurs dans l'éluat) pouvant produire des résultats incorrects. Dans ce cas, l'échantillon doit être testé à nouveau, en commençant par l'extraction d'un nouvel échantillon.

Les échantillons rapportés comme « HIV1:RNA NOT DETECTED OR BELOW "LOD" COPIES/ML OR IU/ML » (HIV1:ARN NON DÉTECTÉ OU INFÉRIEUR À « LOD » COPIES/ML OU UI/ML) » sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter le VIH-1. Dans ce cas, l'échantillon peut être négatif pour l'ARN du VIH-1 ou l'ARN du VIH-1 est présent à une concentration inférieure à la limite de détection de l'analyse (se reporter à la section [12 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC ELITE InGenius, ELITE BeGenius et MyGenius PRO page 33](#)).

Les échantillons positifs pour l'ARN du VIH-1 à une concentration inférieure à la limite de détection (et à la limite inférieure de quantification) de l'analyse, s'ils sont détectés, sont rapportés comme « HIV1:RNA DETECTED, QUANTITY BELOW "ULOQ" COPIES/ML OR IU/ML » (HIV1: ARN DÉTECTÉ, QUANTITÉ INFÉRIEURE À « ULOQ » COPIES/ML OU UI/ML) (se reporter à la section).

Les échantillons positifs pour l'ARN du VIH-1 dans la plage de mesure linéaire sont détectés et rapportés comme « HIV1: RNA DETECTED, QUANTITY EQUAL TO "XXX" COPIES/ML OR IU/ML » (HIV1: ARN DÉTECTÉ, QUANTITÉ ÉGALE À « XXX » COPIES/ML OU UI/ML) (se reporter à la section [12 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC ELITE InGenius, ELITE BeGenius et MyGenius PRO page 33](#)).

Les échantillons positifs pour l'ARN du VIH-1 qui sont au-dessus de la limite supérieure de quantification sont rapportés comme « HIV1:RNA DETECTED, QUANTITY BEYOND "ULOQ" COPIES/ML OR IU/ML » (HIV1:ARN DÉTECTÉ, QUANTITÉ SUPÉRIEURE À « ULOQ » COPIES/ML OU UI/ML) (se reporter à la section [12 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC ELITE InGenius, ELITE BeGenius et MyGenius PRO page 33](#)) et ne sont pas appropriés pour une quantification. Si nécessaire, l'échantillon peut être dilué avant l'extraction et être à nouveau testé pour générer des résultats entrant dans la plage de mesure linéaire de l'analyse.

NOTE!

les résultats obtenus avec ce test doivent être interprétés en association avec l'ensemble des observations cliniques pertinentes et des résultats du laboratoire.

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

Rapport des résultats des échantillons

Les résultats des échantillons sont stockés dans la base de données et les rapports peuvent être exportés sous forme de « Summary Report » (Rapport résumé) et de « Details Report » (Rapport détaillé).

Le « Details Report » (Rapport détaillé) présente les détails des résultats pour chaque échantillon sélectionné (SID).

Le « Summary Report » (Rapport résumé) présente les résultats d'interprétation pour tous les échantillons sélectionnés (SID).

Le « Details Report » (Rapport détaillé) et le « Summary Report » (Rapport résumé) peuvent être imprimés et signés par le personnel agréé.

12 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC ELITE InGenius, ELITE BeGenius et MyGenius PRO

12.1 Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du test a été déterminée sur l'instrument ELITE InGenius en testant un panel d'échantillons de plasma ACD négatifs pour le VIH-1 dopés avec un matériel de référence du VIH-1 (4^e étalon international de l'OMS, NIBSC). Une analyse de régression des probits a été réalisée sur les résultats, et la LoD a été estimée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 %.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

Tableau 18

Limite de détection (UI/mL) pour des échantillons de plasma ACD avec le ELITE InGenius			
Cible	LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
VIH-1	60	40	122

La LoD, exprimée en copies/mL pour le plasma ACD, a été calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique (2,3 UI/copie) indiqué au paragraphe [12.13 Facteur de conversion en unités internationales page 44](#). La sensibilité analytique, en copies/mL, est indiquée ci-dessous.

Tableau 19

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

La valeur de LoD calculée a été vérifiée en testant, sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius, un pool d'échantillons de plasma ACD et un pool d'échantillons de plasma EDTA dopés avec un matériel de référence du VIH-1 à la concentration revendiquée.

Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour la cible du HIV1 ELITE MGB Kit sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius.

La valeur de LoD calculée sur l'instrument ELITE InGenius est également valide pour l'instrument MyGenius PRO.

12.2 Équivalence des matrices : plasma EDTA versus plasma ACD

L'équivalence des matrices du test a été vérifiée sur le ELITE InGenius en utilisant des échantillons appariés (même donneur) de plasma ACD et de plasma EDTA.

Pour 30 échantillons négatifs pour le VIH testés à l'aide d'un dosage immunologique de DIV portant le marquage CE, le pourcentage de concordance négative (PCN) et le coefficient de variation (% CV) des valeurs Ct du Contrôle interne ont été évalués.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

Tableau 20

Échantillon	N	Positif	Négatif	PCN	% CV Ct de l'IC	% CV Ct globale de l'IC
Plasma prélevé sur EDTA	30	1	29	96,7 %	1,80	1,81
Plasma prélevé sur ACD	30	0	30		1,81	

Tableau 21

Échantillon	N	Positif	Négatif	PCP	% CV Ct du VIH-1	% CV Ct globale du VIH-1
Plasma prélevé sur EDTA	30	30	0	100 %	1,81	1,53
Plasma prélevé sur ACD	30	0	30		1,81	

Dans ces tests, les 30 échantillons appariés de plasma EDTA et de plasma ACD ont montré des performances équivalentes lorsqu'ils ont été analysés à l'aide du HIV1 ELITE MGB® Kit en association avec le ELITE InGenius.

Un test d'équivalence des matrices supplémentaire a été effectué dans l'étude de la plage de mesure linéaire indiquée à la section suivante.

L'équivalence des matrices vérifiée en association avec le ELITE InGenius est également valide pour le ELITE BeGenius et MyGenius PRO.

12.3 Plage de mesure linéaire

La plage de mesure linéaire du test a été déterminée en association avec des échantillons de plasma sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius en utilisant un panel de dilutions d'un matériel de référence du VIH-1 groupe M, sous-type B (ZeptoMetrix) dans des échantillons de plasma EDTA négatifs.

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.

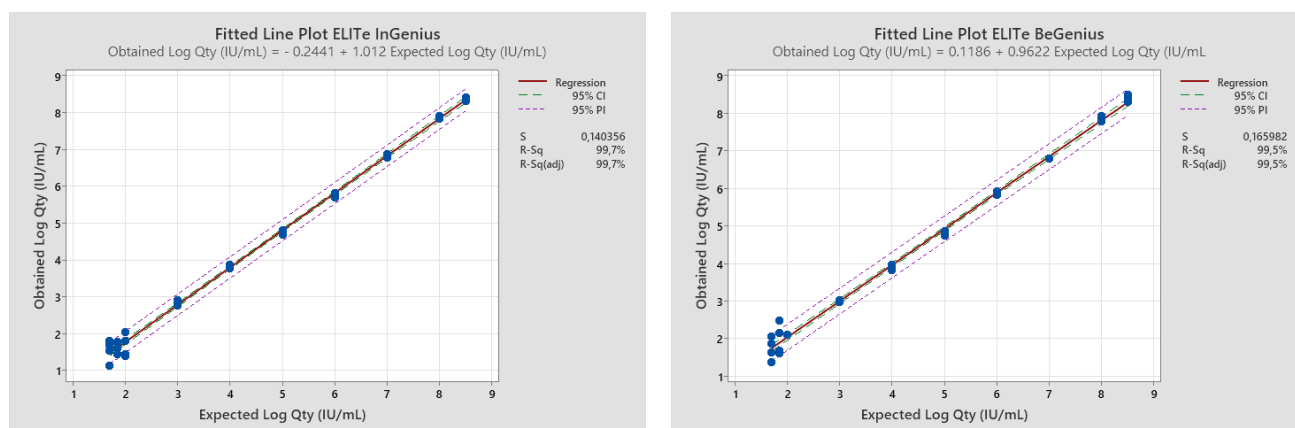


Fig. 1

La plage de mesure linéaire en copies/mL pour le plasma EDTA est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué à la section suivante.

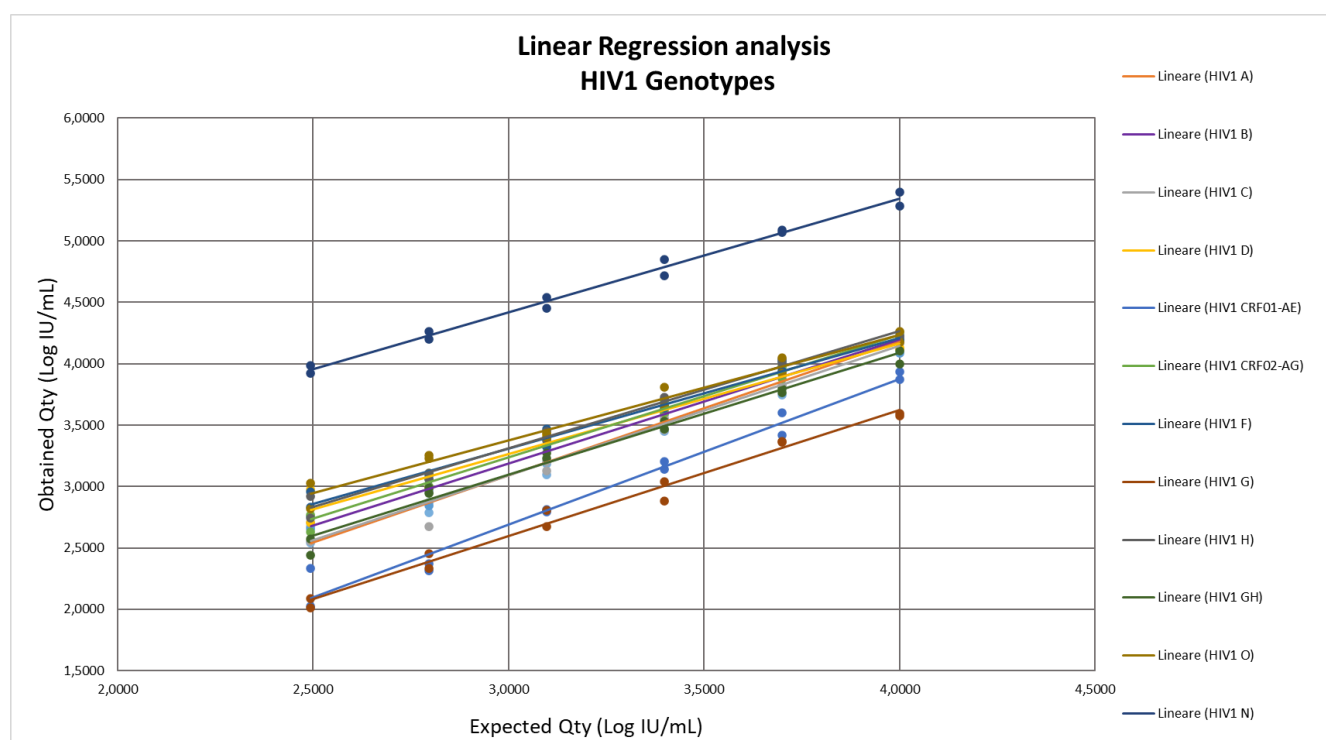
Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 22 Plage de mesure linéaire pour les échantillons de plasma EDTA avec le ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Limite inférieure	Limite supérieure
60 UI/mL	319 300 796 UI/mL
26 copies/mL	138 826 433 copies/mL

Pour les principaux génotypes du VIH (Groupe M sous-types A, C, D, CRF01-AE, F, G, GH, H, CRF02-AG, Groupe O et Groupe N), la plage de mesure linéaire a été vérifiée par une analyse d'échantillons de plasma EDTA négatifs dopés avec un matériel de référence du VIH (Panel de sous-types du VIH-1, Institut de virologie, Hôpital universitaire d'Erlangen).

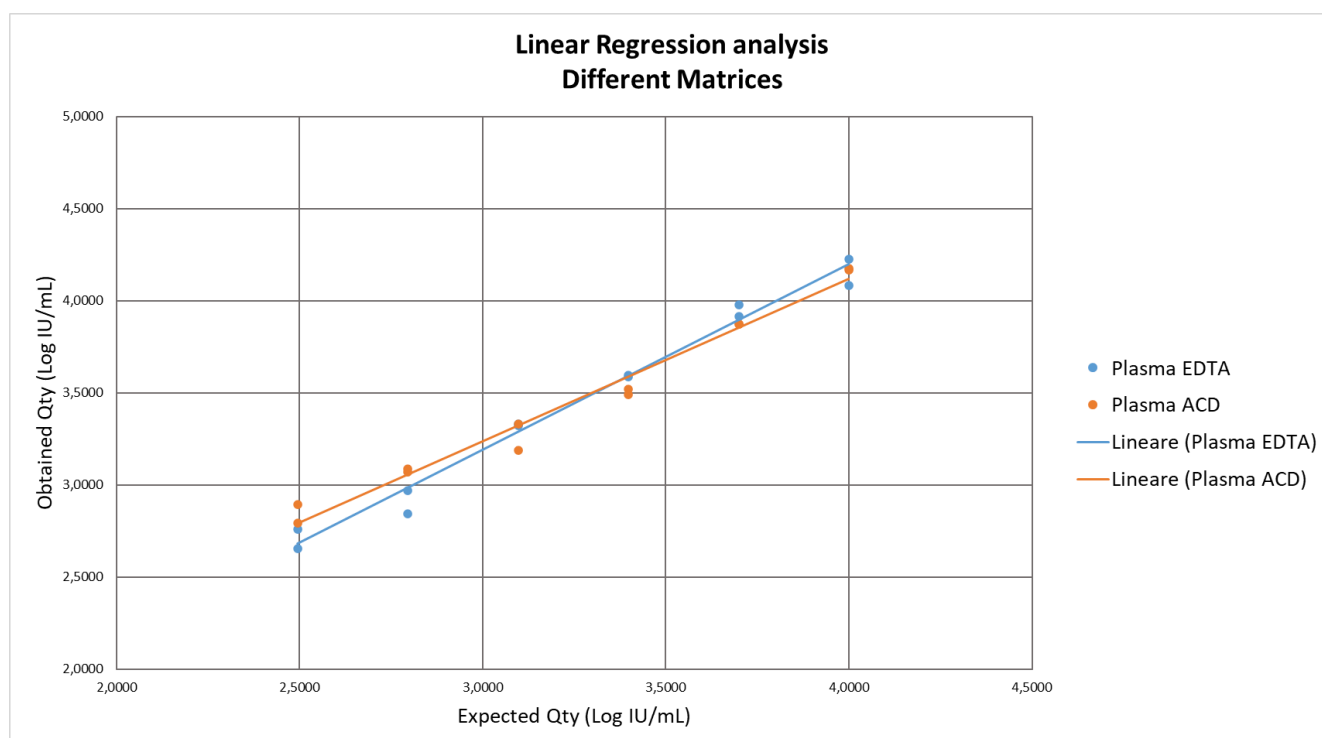
Les résultats sont présentés sur la figure suivante.

**Fig. 2**

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

La plage de mesure linéaire a été vérifiée par une analyse d'échantillons de plasma EDTA négatifs et d'échantillons de plasma ACD négatifs dopés avec un matériel de référence du VIH-1 groupe M, sous-type B (Zeptomatrix). Les résultats correspondants du test avec le plasma EDTA ont été rapportés à titre de référence.

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.

**Fig. 3**

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

La plage de mesure linéaire déterminée pour les instruments ELITE InGenius et ELITE BeGenius est également valide pour l'instrument MyGenius PRO.

12.4 Incertitude de la courbe d'étalonnage

La valeur d'incertitude de la courbe d'étalonnage a été calculée en combinant les erreurs aléatoires (EC) de toutes les quantifications de niveau et en multipliant le résultat par le facteur de couverture $k = 2$ (incertitude combinée élargie). Celle-ci est de 0,1348 Log copies/réaction.

Tableau 23

Niveaux de la courbe d'étalonnage	Théorique Log copies/réaction	EC	Incertitude combinée élargie
HIV1 Q - PCR Standard 10^5	5,0000	0,0535	0,1348
HIV1 Q - PCR Standard 10^4	4,0000	0,0602	
HIV1 Q - PCR Standard 10^3	3,0000	0,0600	
HIV1 Q - PCR Standard 10^2	2,0000	0,0899	

12.5 Inclusivité : efficacité de détection et de quantification de différents génotypes

L'inclusivité du test, en tant qu'efficacité de détection de différents génotypes du VIH-1, a été évaluée par une analyse *in silico* des séquences disponibles dans les bases de données de nucléotides. L'analyse a montré une conservation des séquences et une absence de mutations significatives. En conséquence, on s'attend à ce que les différentes souches ou isolats soient efficacement détectés.

L'inclusivité du test a été vérifiée en testant deux panels de matériels de référence du VIH (OMS et Erlangen) à 3 x la LoD.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 24

1 ^{er} panel de référence international de l'OMS pour les CRF du VIH-1			
Sous-type/Groupe	Souche	Pos./Rép.	Résultat
Groupe O	BCF01	3/3	VIH-1 détecté
CRF11 GJ	MP1307	3/3	VIH-1 détecté
CRF02-AG	P1261	3/3	VIH-1 détecté
CRF01-AE	CM244	3/3	VIH-1 détecté
CRF01 A,G,J,U	96CM1849	3/3	VIH-1 détecté
CRF BG 24	X2456	3/3	VIH-1 détecté
Sous-type J	SE9173	3/3	VIH-1 détecté
Sous-type C	X1936	3/3	VIH-1 détecté
Sous-type G	P962	3/3	VIH-1 détecté
CRF ADG	24203	3/3	VIH-1 détecté

Tableau 25

Panel de sous-types du VIH-1 d'Erlangen			
ID échantillon	Souche	Pos./Rép.	Résultat
HIV1 A1	92UG029	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 A2	00KE_KER2018	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 B1	92TH026	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 B2	90TH_BK132	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 C1	92BR025	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 C2	99ET_14	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 D1	92UG021	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 D2	92UG035	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 D3	92UG024	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 E1	92TH022	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 F1	93BR029	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 F2	93BR020	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 G	RU570	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 H	VI525	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 GH	VI557	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 AG1	01CM.0005BBY	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 AG2	01CM.0008BBY	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 N	YBF30	3/3	VIH-1 détecté

Tableau 25 (continued)

Panel de sous-types du VIH-1 d'Erlangen			
ID échantillon	Souche	Pos./Rép.	Résultat
HIV1 O1	MVP5180	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 O2	CA-9	3/3	VIH-1 détecté

Tous les échantillons ont été correctement détectés comme positifs et quantifiés à $\pm 0,5$ Log à l'aide du HIV1 ELITe MGB® Kit.

12.6 Marqueurs potentiellement interférents : réactivité croisée

La réactivité croisée potentielle d'organismes non souhaitables qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques a été évaluée par une analyse *in silico*. L'analyse n'a montré aucune homologie significative avec d'autres organismes non souhaitables (virus, bactéries, protozoaires et champignons) à l'exception du VIH-2, l'organisme le plus apparenté au VIH-1 qui présente une homologie proche de 80 %. On ne s'attend donc à aucune réactivité croisée.

L'absence de réactivité croisée avec des organismes potentiellement interférents a également été vérifiée par l'analyse d'un panel d'organismes non souhaitables (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) à un titre élevé.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 26

ID échantillon	HIV1 Pos./Rép.	Résultat
VIH-2	3/3	Réactivité croisée
HTLV1	0/3	Aucune réactivité croisée
HTLV2	0/3	Aucune réactivité croisée
CMV	0/3	Aucune réactivité croisée
EBV	0/3	Aucune réactivité croisée
VHA	0/3	Aucune réactivité croisée
VHB	0/3	Aucune réactivité croisée
VHC	0/3	Aucune réactivité croisée
VHE	0/3	Aucune réactivité croisée
HSV1	0/3	Aucune réactivité croisée
HSV2	0/3	Aucune réactivité croisée
HHV6	0/3	Aucune réactivité croisée
VZV	0/3	Aucune réactivité croisée
Virus de la grippe A	0/3	Aucune réactivité croisée
Virus de la grippe B	0/3	Aucune réactivité croisée
RSV	0/3	Aucune réactivité croisée
ADV	0/3	Aucune réactivité croisée
VNO	0/3	Aucune réactivité croisée
DV3	0/3	Aucune réactivité croisée

Tableau 26 (continued)

ID échantillon	HIV1 Pos./Rép.	Résultat
EV	0/3	Aucune réactivité croisée
PVB19	0/3	Aucune réactivité croisée
Staphylococcus aureus	0/3	Aucune réactivité croisée
Candida albicans	0/3	Aucune réactivité croisée

Tous les marqueurs potentiellement interférents testés n'ont montré aucune réactivité croisée pour l'amplification de la cible VIH-1 à l'aide du HIV1 ELITe MGB Kit mais une réactivité croisée a été observée avec le VIH-2, qui est susceptible de générer des résultats positifs avec une quantification 2 000 fois inférieure au titre théorique du VIH-2.

12.7 Marqueurs potentiellement interférents : inhibition

L'inhibition potentielle du test exercée par des organismes non souhaitables qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques a été évaluée par l'analyse d'un panel d'organismes non souhaitables provenant de différents fournisseurs (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 27

ID échantillon	HIV1 Pos./Rép.	Résultat
VIH-2	3/3	Aucune interférence
HTLV1	3/3	Aucune interférence
HTLV2	3/3	Aucune interférence
CMV	3/3	Aucune interférence
EBV	3/3	Aucune interférence
VHA	3/3	Aucune interférence
VHB	3/3	Aucune interférence
VHC	3/3	Aucune interférence
VHE	3/3	Aucune interférence
HSV1	3/3	Aucune interférence
HSV2	3/3	Aucune interférence
HHV6	3/3	Aucune interférence
VZV	3/3	Aucune interférence
Virus de la grippe A	3/3	Aucune interférence
Virus de la grippe B	3/3	Aucune interférence
RSV	3/3	Aucune interférence
ADV	3/3	Aucune interférence
VNO	3/3	Aucune interférence
DV3	3/3	Aucune interférence
EV	3/3	Aucune interférence

Tableau 27 (continued)

ID échantillon	HIV1 Pos./Rép.	Résultat
PVB19	3/3	Aucune interférence
Staphylococcus aureus	3/3	Aucune interférence
Candida albicans	3/3	Aucune interférence

Tous les organismes potentiellement interférents testés n'ont montré aucune inhibition de la détection et la quantification de la cible VIH-1 à l'aide du HIV1 ELITe MGB Kit.

NOTE!

même si le VIH-2 n'inhibe pas la détection du VIH-1, il peut entraîner une quantification excessive du VIH-1 dans les échantillons des individus doublement infectés en raison de la réactivité croisée du VIH-2.

12.8 Substances potentiellement interférentes : inhibition

L'inhibition potentielle du test exercée par des substances interférentes (endogènes et exogènes) qui peuvent être présentes dans des échantillons cliniques a été évaluée par l'analyse d'un panel de substances à une concentration pertinente dans des échantillons de plasma positifs pour les cibles.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 28

Échantillon	HIV1 Pos./Rép.	Résultat
EDTA	3/3	Aucune interférence
Héparine	0/3	Interférence
Sang hémolytique, concentration élevée	3/3	Aucune interférence
Plasma lipémique	3/3	Aucune interférence
Plasma ictérique	3/3	Aucune interférence
Ganciclovir	3/3	Aucune interférence
Azithromycine	3/3	Aucune interférence
Abacavir	3/3	Aucune interférence
Emtricitabine	3/3	Aucune interférence
Lamivudine	3/3	Aucune interférence
Ténofovir	3/3	Aucune interférence
Doravirine	3/3	Aucune interférence
Efavirenz	3/3	Aucune interférence
Rilpivirine	3/3	Aucune interférence
Atazanavir	3/3	Aucune interférence
Darunavir	3/3	Aucune interférence
Bictégravir	3/3	Aucune interférence

Tableau 28 (continued)

Échantillon	HIV1 Pos./Rép.	Résultat
Elvitégavir	3/3	Aucune interférence
Maraviroc	3/3	Aucune interférence

La majorité des substances testées n'entraînent aucune interférence avec l'amplification du VIH-1 ou du Contrôle interne.

Il a été confirmé que l'héparine était capable d'inhiber l'amplification du VIH-1 ; cependant, en raison de la valeur seuil Ct du Contrôle Interne (Ct de l'IC < 33), les résultats des échantillons étaient « non valides », et pas « faux négatifs ».

12.9 Contamination croisée

L'éventuelle contamination croisée pendant l'analyse a été évaluée en testant 30 échantillons de plasma négatifs pour l'ARN du VIH-1 en alternance avec 30 échantillons de plasma dopés avec un matériel de référence du VIH-1 (Zeptomatrix) à un titre élevé.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 29

Échantillons	N	Négatif	Positif
Plasma ACD dopé à 1×10^6 UI/mL de VIH-1	30	0	30
Plasma ACD négatif pour le VIH-1	30	30	0

Dans ce test avec le HIV1 ELITE MGB Kit, aucune contamination croisée n'a été détectée (intra-session et inter-sessions).

12.10 Taux de défaillance de l'ensemble du système

Le taux de défaillance de l'ensemble du système pour le test a été évalué sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius en testant un panel d'échantillons dopés avec un matériel de référence certifié (PEI) à une concentration de $3 \times$ la LoD (environ 180 UI/mL).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 30 ELITE InGenius - Taux de défaillance de l'ensemble du système

Échantillons	N	UI/mL théoriques	Négatif	Positif	Taux de défaillance de l'ensemble du système
Plasma EDTA dopé avec le VIH-1	100	180	0	100	0 %
Plasma ACD dopé avec le VIH-1	30	180	0	30	0 %

Tableau 31 ELITE BeGenius - Taux de défaillance de l'ensemble du système

Échantillons	N	UI/mL théoriques	Négatif	Positif	Taux de défaillance de l'ensemble du système
Plasma EDTA dopé avec le VIH-1	100	180	0	100	0 %

Dans le test avec le HIV1 ELITE MGB Kit, aucun des échantillons positifs pour le VIH-1 testés n'a généré de résultat faux négatif. Dans ce test, le taux de défaillance de l'ensemble du système était de 0 %.

12.11 Répétabilité

La répétabilité intra-session et inter-sessions du test a été évaluée sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de plasma, incluant un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VIH-1 (4^e étalon international de l'OMS, NIBSC).

Un exemple des résultats de la répétabilité intra-session (sur un seul jour) est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 32 Répétabilité intra-session avec le ELITE InGenius (Jour 1)

Échantillon	VIH-1				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	8	Indéterminé	-	-	100 %
3 x la LoD	8	35,02	0,40	1,14	100 %
10 x la LoD	8	33,67	0,46	1,36	100 %

Tableau 33 Répétabilité intra-session avec le ELITE BeGenius (Jour 1)

Échantillon	VIH-1				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	8	Indéterminé	-	-	100 %
3 x la LoD	8	35,90	0,72	2,02	100 %
10 x la LoD	8	33,94	0,62	1,83	100 %

Un exemple des résultats de la répétabilité inter-sessions (sur deux jours) est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 34 Répétabilité inter-sessions avec le ELITE InGenius (Jour 1 + Jour 2)

Échantillon	VIH-1				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	16	Indéterminé	-	-	100 %
3 x la LoD	16	35,09	0,27	0,78	100 %
10 x la LoD	16	33,68	0,36	1,07	100 %

Tableau 35 Répétabilité inter-sessions avec le ELITE BeGenius (Jour 1 + Jour 2)

Échantillon	VIH-1				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	16	Indéterminé	-	-	100 %
3 x la LoD	16	35,99	0,59	1,64	100 %
10 x la LoD	16	34,11	0,51	1,49	100 %

Dans le test de répétabilité, le HIV1 ELITE MGB Kit a détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) inférieure à 5 %.

12.12 Reproductibilité

La reproductibilité inter-sites du test a été évaluée sur le ELITE InGenius par une analyse d'un panel d'échantillons de plasma négatifs ou dopés avec le VIH-1 (4^e étalon international de l'OMS, NIBSC).

Un résumé de la reproductibilité inter-sites (sur trois sites) est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 36 Reproductibilité inter-sites avec le ELITE InGenius

Échantillon	VIH-1				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	24	Indéterminé	-	-	100 %
3 x la LoD	24	35,01	0,66	1,88	100 %
10 x la LoD	24	33,34	0,23	0,68	100 %

Dans le test de reproductibilité inter-sites, le HIV1 ELITE MGB Kit a détecté la cible et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) inférieure à 5 %.

La reproductibilité du test a été évaluée sur le ELITE BeGenius et ELITE InGenius par une analyse d'un panel d'échantillons de plasma négatifs ou dopés avec le VIH-1 (4^e étalon international de l'OMS, NIBSC).

Un résumé de la reproductibilité inter-instruments (sur trois instruments) est présenté dans les tableaux ci-dessous :

Tableau 37 Reproductibilité inter-instruments avec le ELITE InGenius

Échantillon	VIH-1				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	24	Indéterminé	-	-	100 %
3 x la LoD	24	35,17	0,47	1,34	100 %
10 x la LoD	24	33,76	0,30	0,88	100 %

Tableau 38 Reproductibilité inter-instruments avec le ELITE BeGenius

Échantillon	VIH-1				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	24	Indéterminé	-	-	100 %
3 x la LoD	24	35,86	0,59	1,65	100 %
10 x la LoD	24	34,12	0,41	1,19	100 %

Un résumé de la reproductibilité inter-lots (sur trois lots) est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 39 Reproductibilité inter-lots avec le ELITE InGenius

Échantillon	VIH-1				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	48	Indéterminé	-	-	100 %
3 x la LoD	48	35,14	0,63	1,81	100 %
10 x la LoD	48	33,64	0,41	1,22	100 %

Tableau 40 Reproductibilité inter-lots avec le ELITE BeGenius

Échantillon	VIH-1				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	48	Indéterminé	-	-	100 %
3 x la LoD	48	35,79	0,67	1,87	100 %
10 x la LoD	48	34,06	0,33	0,98	100 %

Dans le test de reproductibilité inter-instruments et inter-lots, le HIV1 ELITE MGB Kit a correctement détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) inférieure à 5 %.

12.13 Facteur de conversion en unités internationales

Le facteur de conversion pour indiquer les résultats quantitatifs en unités internationales/mL à partir d'une valeur en copies/mL a été calculé en utilisant le matériel de référence certifié et étalonné « 4^e étalon international de l'OMS pour le VIH-1 » (NIBSC).

Le facteur de conversion a été déterminé à **2,3 UI/copie**.

Étant donné que l'équivalence entre le plasma EDTA et le plasma ACD a été précédemment démontrée, le facteur de conversion peut être appliquée aux deux matrices.

Le facteur de conversion pour indiquer les résultats quantitatifs en unités internationales/mL à partir d'une valeur en copies/mL a été vérifié sur les instruments **ELITE BeGenius** et **ELITE InGenius** en utilisant le matériel de référence certifié et étalonné (4^e étalon international de l'OMS, NIBSC).

Les résultats obtenus ont été analysés par une régression orthogonale et linéaire afin de calculer la corrélation.

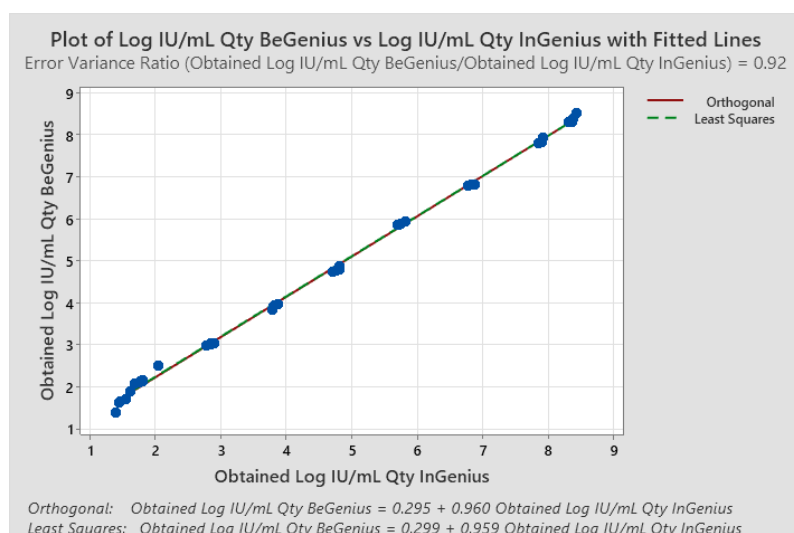


Fig. 4

L'analyse de régression orthogonale générant une ordonnée à l'origine de -0,066 (IC à 95 % : -0,194 ; 0,061) et une pente de 0,998 (IC à 95 % : 0,953 ; 1,042). L'analyse de régression linéaire générant un R^2 de 0,991. 2of 0.991.

Le facteur de conversion en unités internationales calculé pour le ELITE InGenius est également valide pour le MyGenius PRO.

12.14 MyGenius PRO : corrélation des méthodes

L'analyse de corrélation de différentes méthodes a été évaluée sur l'instrument MyGenius PRO par l'analyse d'échantillons de patients positifs pour le VIH-1, dont la charge virale était comprise dans la plage de mesure de la méthode de référence (ELITE InGenius). Les résultats obtenus avec l'instrument MyGenius PRO et la méthode de référence (ELITE InGenius) ont été analysés par régression orthogonale et linéaire.

L'étude de corrélation a été réalisée dans un seul site, sur 103 échantillons cliniques de plasma EDTA ayant été certifiés positifs pour l'ARN du VIH-1 ou dopés avec un matériel de référence, en utilisant l'instrument ELITE InGenius à titre de comparaison.

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.

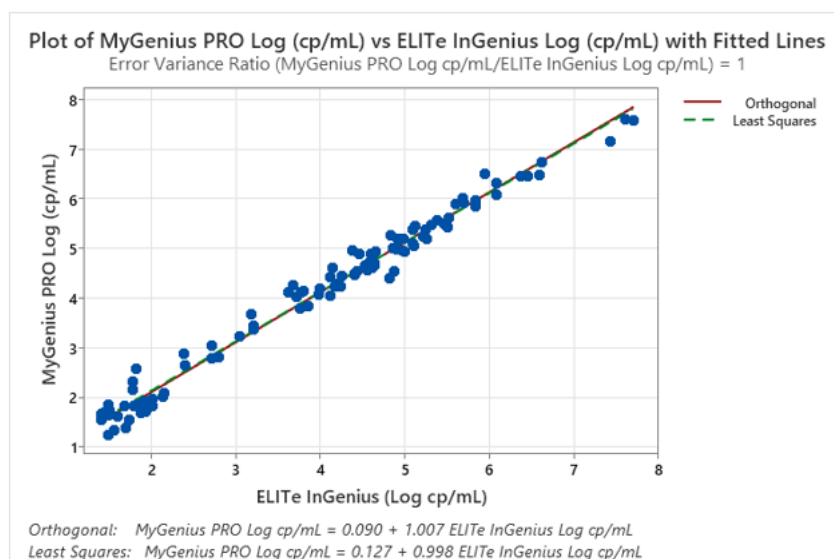


Fig. 5

L'analyse de régression orthogonale a généré une ordonnée à l'origine de 0,090 (IC à 95 % : -0,0243 ; 0,2045) et une pente de 1,007 (IC à 95 % : 0,9801 ; 1,0333). L'analyse de régression linéaire génère un R^2 de 0,982.2 of 0.982.

Les résultats de la corrélation des méthodes sont également valides pour la matrice de plasma ACD.

12.15 Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, évaluée par le pourcentage de concordance négative, a été évaluée sur le **ELITE InGenius** dans trois sites différents en analysant des échantillons cliniques négatifs pour l'ARN du VIH-1 testés par des méthodes de diagnostic moléculaire de référence portant le marquage CE DIV.

Étant donné que les performances analytiques du ELITE BeGenius sont équivalentes à celles du ELITE InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la spécificité diagnostique du test obtenue sur le ELITE InGenius s'applique également au ELITE BeGenius.

Étant donné que les performances analytiques du MyGenius PRO sont équivalentes à celles du ELITE InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la spécificité diagnostique du test obtenue en association avec ELITE InGenius s'applique également à MyGenius PRO.

Les résultats de l'étude de la spécificité diagnostique, après analyse des échantillons discordants, sont résumés dans le tableau suivant, en étant à la fois différenciés par la méthode de référence (« cobas® HIV-1 for use on the 4800 System » et « cobas® HIV-1 for use on the 6800 System », Roche Diagnostics) et regroupés, car ils présentent des performances équivalentes.

Tableau 41

Échantillons de plasma EDTA négatifs pour l'ARN du VIH-1	N	Positif	Négatif	Spécificité diagnostique
Référence : cobas HIV-1 for use on the 6800 System	90	0	90	100 %
Référence : cobas HIV-1 for use on the 4800 System	159	3	156	98,1 %
Résultats regroupés	249	3	246	98,8 %

La valeur seuil Ct de l'IC pour le plasma EDTA et le plasma ACD a été définie à 35 lorsqu'elle a été testée sur les instruments ELITE InGenius, ELITE BeGenius et MyGenius PRO.

12.16 Sensibilité diagnostique : corrélation des méthodes

La sensibilité diagnostique du test, évaluée par une analyse de corrélation de différentes méthodes, a été évaluée sur le **ELITE InGenius** dans trois sites différents par une analyse d'échantillons cliniques positifs pour l'ARN du VIH-1 provenant de patients recevant une thérapie antivirale dont la charge virale était comprise dans la plage de mesure linéaire du HIV1 ELITE MGB Kit et de méthodes de diagnostic moléculaire de référence portant le marquage CE DIV. Les résultats obtenus avec le HIV1 ELITE MGB Kit et la méthode de référence ont été analysés par une régression orthogonale et linéaire.

L'étude de corrélation a été réalisée dans un seul site sur 87 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA positifs pour l'ARN du VIH-1 en utilisant le « cobas® HIV-1 for use on the 6800 System » à titre de comparaison. Les résultats sont résumés sur la figure suivante.

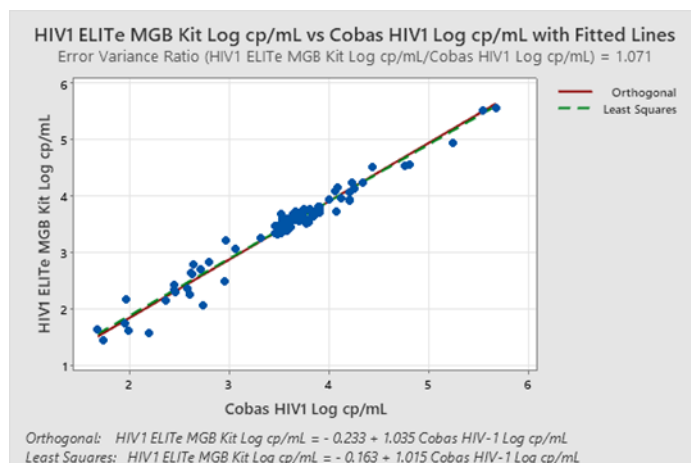


Fig. 6

Dans ce test, l'analyse de régression orthogonale génèrait une pente de 1,035 (IC à 95 % : 0,991 ; 1,078) et une ordonnée à l'origine de -0,233 (IC à 95 % : -0,390 ; -0,075).

L'étude de corrélation a été réalisée dans les deux autres sites sur 150 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA positifs pour l'ARN du VIH-1 en utilisant le « cobas® HIV-1 for use on the 4800 System » à titre de comparaison. Les résultats sont résumés sur la figure suivante.

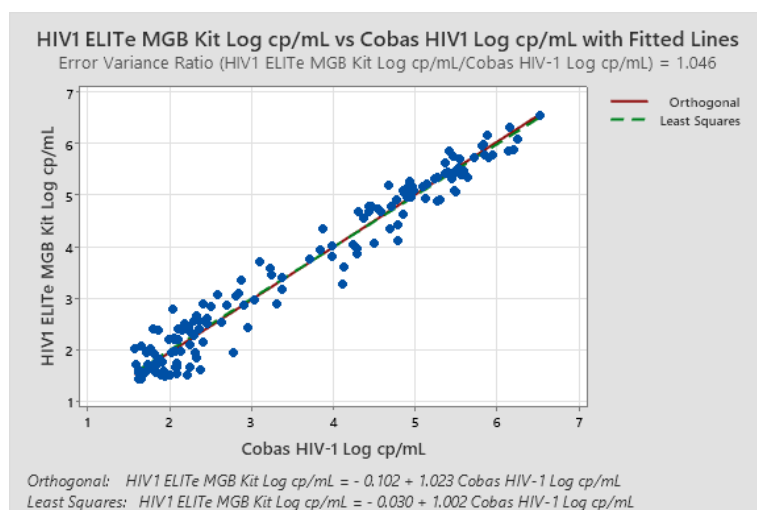


Fig. 7

Dans ce test, l'analyse de régression orthogonale génèrait une pente de 1,023 (IC à 95 % : 0,989 ; 1,056) et une ordonnée à l'origine de -0,102 (IC à 95 % : -0,229 ; 0,026).

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

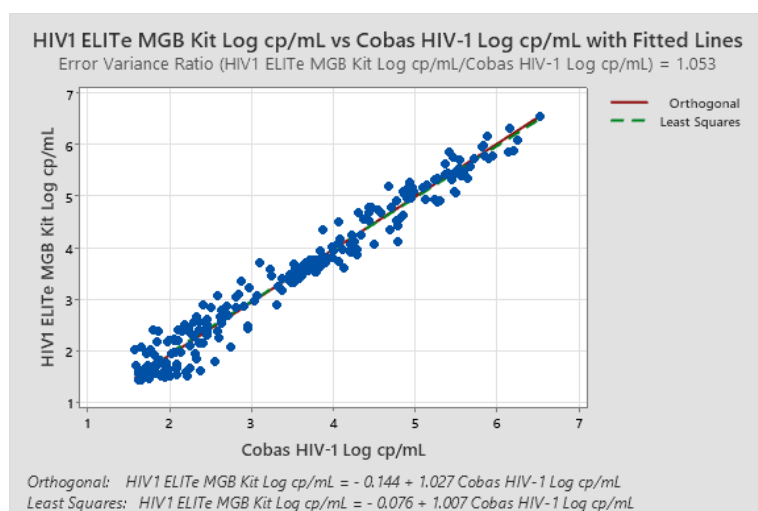


Fig. 8

Dans ce test, l'analyse de régression orthogonale génère une pente de 1,027 (IC à 95 % : 1,001 ; 1,052) et une ordonnée à l'origine de -0,144 (IC à 95 % : -0,241 ; -0,047).

Étant donné que les performances analytiques du ELITE BeGenius sont équivalentes à celles du ELITE InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la sensibilité diagnostique du test obtenue sur le ELITE InGenius s'applique également au ELITE BeGenius.

Étant donné que les performances analytiques du MyGenius PRO sont équivalentes à celles du ELITE InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la sensibilité diagnostique du test obtenue en association avec ELITE InGenius s'applique également à MyGenius PRO.

NOTE!

Les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et l'instrument sont présentés dans la Fiche technique du produit « HIV1 ELITE MGB Kit », FTP 600ING.

13 BIBLIOGRAPHIE

J. Müller et al. (2007) *J. Virol. Methods* **142**: 127 - 135.

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

DHHS Guidelines 2019: "Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV".

WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics Public Report (WHO PQ Public Report), number PQDx 0365-118-00, 10/2020, version 20.

<https://ltd.aruplab.com> (numéro de test 3000867).

B. Amellal et al. (2008) *HIV Medicine*, **9**: 790–793.

K. Sebire et al. (1998), *J. Clin. Microbiol.*, **36**: 493–498.

C. Ginocchio et al. (1997), *J. Clin. Microbiol.*, **35**: 2886–2893.

C. Baleriola et al. (2011), *J. Clin. Microbiol.*, **49**: 3163–3167.

14 LIMITES DE LA PROCÉDURE

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

Le plasma prélevé sur EDTA ou ACD doit être obtenu à partir de sang total conservé à température ambiante ou à +2/+8 °C pendant 24 heures maximum.

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

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

Ce produit n'est pas destiné au dépistage ou à la détection de la présence ou de l'exposition à des agents transmissibles dans le sang, les composants sanguins, les cellules, les tissus, les organes ou l'un de leurs dérivés, afin d'évaluer leur aptitude à la transfusion, à la transplantation ou à l'administration de cellules.

Le produit n'est pas destiné à être utilisé comme un test de diagnostic pour confirmer la présence d'une infection par le VIH-1.

Ce produit présente une réactivité croisée avec le VIH-2 qui est susceptible de générer des résultats positifs avec une quantification 2 000 fois inférieure au titre théorique du VIH-2. Cependant, compte tenu de l'utilisation prévue du produit, de l'épidémiologie du VIH-2 et de la mise en œuvre d'algorithmes de diagnostic clairs (par exemple, CDC) visant à distinguer l'infection par le VIH-1 de celle par le VIH-2, la réactivité croisée du VIH-2 ne représente pas un réel problème. Néanmoins, le HIV1 ELITe MGB Kit n'est pas idéal pour aider à la prise en charge des individus doublement infectés par le VIH-1 et le VIH-2. Dans ce cas, le VIH-2 n'inhibe pas la détection du VIH-1 mais peut entraîner une quantification excessive du VIH-1 en raison de la réactivité croisée du VIH-2.

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

La méthode de PCR en temps réel utilisée dans ce produit présente une sensibilité analytique élevée qui la rend sensible à une contamination par les échantillons cliniques positifs, les contrôles positifs et les produits de PCR. Une contamination croisée peut générer des résultats faux positifs. Le format du produit est conçu pour limiter la contamination croisée. Toutefois, une contamination croisée ne peut être évitée qu'en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et en suivant le présent mode d'emploi.

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

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

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

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

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

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

Un résultat négatif obtenu avec ce produit indique que l'ARN cible n'est pas détecté dans l'ARN extrait de l'échantillon ; toutefois, il n'est pas possible d'exclure le fait que de l'ARN cible soit présent à un titre inférieur à la limite de détection du produit (se reporter à la section [12 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC ELITe InGenius, ELITe BeGenius et MyGenius PRO page 33](#)). Dans ce cas, le résultat pourrait être un faux négatif.

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

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

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, les résultats obtenus avec ce produit doivent être interprétés en association avec l'ensemble des observations cliniques et des résultats de laboratoire pertinents.

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, il existe un risque résiduel d'obtention de résultats non valides, ou de résultats erronés avec ce produit. Ce risque résiduel ne peut pas être éliminé ni réduit par la suite. Dans certains cas, ce risque résiduel pourrait contribuer à prendre de mauvaises décisions, avec des effets potentiellement dangereux pour le patient. Néanmoins, ce risque résiduel associé à l'utilisation prévue du produit a été évalué comme acceptable au regard des avantages potentiels pour le patient.

15 PROBLÈMES ET SOLUTIONS

ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Tableau 42

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

Tableau 43

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

Tableau 44

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet, du Contrôle interne et de l'échantillon. Vérifier les volumes du mélange réactionnel complet, du Contrôle interne et de l'échantillon.
Erreur de préparation du mélange réactionnel complet.	Vérifier le volume des réactifs utilisés pendant la préparation du mélange réactionnel complet.
Dégradation du mélange réactionnel complet ou de ses composants.	Ne pas utiliser le mélange réactionnel complet pendant plus de 3 sessions d'analyse consécutives (7 heures dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de Stockage] ou dans la Cooler Unit). Ne pas laisser le PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Ne pas exposer le RT EnzymeMix à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes. Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.
Dégradation de la matrice du Contrôle interne.	Utiliser une nouvelle aliquote du Contrôle Interne
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification telle quelle ou avec une dilution à 1:2 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). Répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 45

Courbe de dissociation anormale	
Causes possibles	Solutions
Absence de pic défini. Pic défini mais Tm différente de celles des autres échantillons et de celle des étalons ou du Contrôle positif.	Vérifier que la valeur Ct de la cible est inférieure à 30. Une grande quantité de produit d'amplification à la fin de la réaction peut interférer avec l'analyse de la courbe de fusion. Répéter l'amplification de l'échantillon pour confirmer la présence d'une cible comportant une éventuelle mutation. La cible dans l'échantillon doit être séquencée pour confirmer la mutation.

Tableau 46

Erreur de calcul de la valeur Ct	
Causes possibles	Solutions
Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon ou échantillon montrant une anomalie du signal de fluorescence.	En cas d'observation d'une amplification significative sur la courbe de PCR : - sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat comme positif. Si aucune amplification n'est observée dans la courbe de PCR, sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat comme négatif ou le laisser non valide. Si une valeur Ct est requise : - répéter l'amplification de l'échantillon élué avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). - répéter l'extraction de l'échantillon avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Tableau 47

Taux anormalement élevé de résultats positifs dans la même session d'analyse (réactions avec des valeurs Ct tardives similaires)	
Causes possibles	Solutions
Contamination inter-échantillons pendant les étapes pré-analytiques.	Nettoyer la micropipette à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 3 % (eau de Javel) fraîchement préparée ou d'un agent de nettoyage de l'ADN/ARN après le pipetage de chaque échantillon. Ne pas utiliser de pipettes Pasteur. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou être utilisées avec des cônes dotés d'un filtre pour les aérosols. Introduire les échantillons dans les dernières positions des instruments, comme indiqué par la GUI. Suivre la séquence de chargement indiquée par le logiciel.
Contamination environnementale du laboratoire.	Nettoyer toutes les surfaces en contact avec l'opérateur et les échantillons (y compris les pipettes) à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel) à 3 % fraîchement préparée ou d'un agent de nettoyage de l'ADN/ARN. Effectuer un cycle de décontamination U.V. Utiliser un nouveau tube de Q-PCR Mix et/ou de Contrôle interne

MyGenius PRO

Tableau 48

Réaction du Q-PCR Standard, courbe d'étalonnage ou réaction du Contrôle positif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier les volumes du mélange réactionnel complet, des étalons Q-PCR Standards et du Contrôle positif. Il est important que les tubes utilisés sur le MyGenius PRO n'aient pas été utilisés auparavant par d'autres plateformes ou pour des sessions de configuration sur des plateformes ouvertes, car l'instrument lit l'étiquette et attribue automatiquement le nombre maximal de répliquats pouvant être exécutés si ce tube n'a jamais été chargé sur le MyGenius PRO. Par conséquent, en cas d'utilisation d'un tube qui n'est pas nouveau, le volume peut ne pas être suffisant.
Erreur de préparation du mélange réactionnel complet.	Vérifier le volume des réactifs utilisés pendant la préparation du mélange réactionnel complet.
Dégradation du mélange réactionnel complet ou de ses composants.	Ne pas utiliser le mélange réactionnel complet pendant plus de 7 heures dans le carrousel. Ne pas laisser le PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Ne pas exposer le RT EnzymeMix à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes. Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.
Dégradation des étalons Q-PCR Standards ou du Contrôle positif.	Ne pas utiliser le Q-PCR Standard pendant plus de 2 sessions d'analyse indépendantes (de 2 heures chacune dans le carrousel). Ne pas utiliser le Contrôle positif pendant plus de 4 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans le carrousel). Utiliser de nouveaux tubes de Q-PCR Standards ou du Contrôle positif.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 49

Réaction du Contrôle négatif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier le volume du mélange réactionnel complet et du Contrôle négatif. Il est important que les tubes utilisés sur le MyGenius PRO n'aient pas été utilisés auparavant par d'autres plateformes ou pour des sessions de configuration sur des plateformes ouvertes, car l'instrument lit l'étiquette et attribue automatiquement le nombre maximal de répliquats pouvant être exécutés si ce tube n'a jamais été chargé sur le MyGenius PRO. Par conséquent, en cas d'utilisation d'un tube qui n'est pas nouveau, le volume peut ne pas être suffisant.
Contamination du Contrôle négatif.	Ne pas utiliser le Contrôle négatif pour plus d'une (1) session d'analyse et sur une durée de plus de 8 heures. Utiliser un nouveau tube du Contrôle négatif.
Contamination du mélange réactionnel complet ou de ses composants.	Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.
Contamination de la zone d'extraction, des racks, du « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) ou de la Cooler Unit.	Nettoyer les surfaces avec des détergents aqueux, laver les blouses de laboratoire, remplacer les tubes et les cônes utilisés.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 50

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier les volumes du mélange réactionnel complet, du Contrôle interne et des échantillons. Il est important que les tubes utilisés sur le MyGenius PRO n'aient pas été utilisés auparavant par d'autres plateformes ou pour des sessions de configuration sur des plateformes ouvertes, car l'instrument lit l'étiquette et attribue automatiquement le nombre maximal de réplicats pouvant être exécutés si ce tube n'a jamais été chargé sur le MyGenius PRO. Par conséquent, en cas d'utilisation d'un tube qui n'est pas nouveau, le volume peut ne pas être suffisant.
Dégradation du mélange réactionnel complet ou de ses composants.	Ne pas utiliser le mélange réactionnel complet pendant plus de 7 heures dans le carrousel. Ne pas laisser le PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Ne pas exposer le RT EnzymeMix à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes. Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.
Dégradation de la matrice du Contrôle interne.	Ne pas utiliser le Contrôle interne sur une durée de plus de 8 heures. Utiliser un nouveau tube du Contrôle interne.
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'extraction et l'amplification de l'échantillon. Répéter l'extraction et l'amplification de l'échantillon avec une dilution à 1:2 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire.
Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon ou échantillon montrant une anomalie du signal de fluorescence.	Si une valeur Ct est requise, répéter l'extraction et l'amplification de l'échantillon avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 51

Courbe de dissociation anormale	
Causes possibles	Solutions
Absence de pic défini. Pic défini mais Tm différente de celles des autres échantillons et de celle des étalons ou du Contrôle positif.	Vérifier que la valeur Ct de la cible est inférieure à 30. Une grande quantité de produit d'amplification à la fin de la réaction peut interférer avec l'analyse de la courbe de fusion. Répéter l'extraction et l'amplification de l'échantillon pour confirmer la présence d'une cible comportant une éventuelle mutation. La cible dans l'échantillon doit être séquencée pour confirmer la mutation.

Tableau 52

Erreur de calcul de la valeur Ct	
Causes possibles	Solutions
Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon ou échantillon montrant une anomalie du signal de fluorescence.	En cas d'apparition d'une amplification significative sur la courbe de PCR, le résultat doit être considéré comme positif. Si aucune amplification n'apparaît sur la courbe de PCR, le résultat doit être considéré comme négatif ou non valide. Si une valeur Ct est requise, répéter l'extraction et l'amplification de l'échantillon avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire.

Tableau 53

Taux anormalement élevé de résultats positifs dans la même session d'analyse (réactions avec des valeurs Ct tardives similaires)	
Causes possibles	Solutions
Contamination inter-échantillons pendant les étapes pré-analytiques.	Nettoyer la micropipette à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 3 % (eau de Javel) fraîchement préparée ou d'un agent de nettoyage de l'ADN/ARN après le pipetage de chaque échantillon. Ne pas utiliser de pipettes Pasteur. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou être utilisées avec des cônes dotés d'un filtre pour les aérosols. Introduire les échantillons comme les derniers de la journée.
Contamination environnementale du laboratoire.	Nettoyer toutes les surfaces en contact avec l'opérateur et les échantillons (y compris les pipettes) à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel) à 3 % fraîchement préparée ou d'un agent de nettoyage de l'ADN/ARN. Effectuer un cycle de décontamination U.V. Utiliser un nouveau tube de Q-PCR Mix et/ou de Contrôle interne

16 LÉGENDE DES SYMBOLES



Numéro de référence.



Limite supérieure de température.



Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.



Conforme aux exigences du Règlement IVDR 2017/746/CE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. Certification délivrée par TÜV SÜD Product Service GmbH, Allemagne.



Identifiant unique de dispositif



Contenu suffisant pour << N >> tests.



Consulter le mode d'emploi.



Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

17 AVIS AUX UTILISATEURS

Tout incident grave lié au dispositif doit être signalé au fabricant ainsi qu'à l'autorité compétente de l'état membre dans lequel réside l'utilisateur et/ou le patient. Pour informer le fabricant de ce dispositif, ELITechGroup S.p.A., utiliser l'adresse e-mail suivante : egspa.vigilance@elitechgroup.com.

Un « Résumé de la sécurité et des performances » sera mis à la disposition du public via la base de données européenne sur les dispositifs médicaux (Eudamed) lorsque ce système informatique sera fonctionnel. Avant la publication de l'avis de fonctionnalité complète d'Eudamed, le « Résumé de la sécurité et des performances » sera mis à la disposition du public sur demande par e-mail, à l'adresse emd.support@elitechgroup.com, dans les meilleurs délais.

18 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

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

Les réactifs de détection ELITe MGB® sont couverts par un ou plusieurs des brevets américains numéros 7319022, 7348146, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8163910, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 et par les brevets EP numéros 2689031, 2714939, 2736916, 2997161, ainsi que par des demandes de brevet actuellement en instance.

Les technologies ELITe InGenius®, ELITe BeGenius® et MyGenius PRO® ont été couvertes par des brevets et des demandes en instance.

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

Appendix A HIV1 ELiTe MGB® Kit utilisé en association avec les plateformes Genius series®



ATTENTION

Ce document est une version simplifiée du mode d'emploi officiel. Il est disponible uniquement en anglais. Veuillez consulter le document complet avant toute utilisation : www.elitechgroup.com

Application

Le produit **HIV1 ELiTe MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test quantitatif de transcription inverse et de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la détection et la quantification de l'ARN du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1), extrait d'échantillons cliniques.

Le test est validé en association avec les instruments **ELiTe InGenius®**, **ELiTe BeGenius®** et **MyGenius PRO®** (nom d'enregistrement ELIVERSE®), des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, de transcription inverse, de PCR en temps réel et d'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons humains de plasma prélevé sur EDTA ou ACD.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide à la prise en charge des individus infectés par le VIH-1 recevant une thérapie antivirale.

Les résultats doivent être interprétés en association avec l'ensemble des observations cliniques pertinentes et des résultats du laboratoire.

Le produit n'est pas destiné au dépistage ou à la détection de la présence ou de l'exposition à des agents transmissibles dans le sang, les composants sanguins, les cellules, les tissus, les organes ou l'un de leurs dérivés, afin d'évaluer leur aptitude à la transfusion, à la transplantation ou à l'administration de cellules. Le produit n'est pas destiné à être utilisé comme un test de diagnostic pour confirmer la présence d'une infection par le VIH-1.

Séquence amplifiée

Séquence	Gène	Fluorophore	Canal
Cible	Gène de la polymérase du VIH-1 (région intégrase)	FAM	HIV1
Internal Control	MS2	AP525	IC

Matrices validées

› Plasma prélevé sur EDTA	› Plasma prélevé sur ACD
---------------------------	--------------------------

Contenu du kit

HIV1 ELITe MGB Mix		HIV1 ELITe Standard		HIV1 - ELITe Positive Control	HIV1 Internal Control
 X 4	 X 2	    X 1		 X 2	 X 8
PCR Mix 4 tubes de 600 µL 96 réactions par kit 5 cycles de congélation/décongélation par tube	RT EnzymeMix 2 tubes de 20 µL 96 réactions par kit 10 cycles de congélation/décongélation par tube	Calibrateurs prêts à l'emploi : 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 1 jeu de 4 tubes de 160 µL 2 cycles de congélation/décongélation par tube		CP prêt à l'emploi 2 tubes de 160 µL 8 réactions par kit 4 cycles de congélation/décongélation par tube	IC prêt à l'emploi 8 tubes de 160 µL 96 extractions par kit 6 cycles de congélation/décongélation par tube

Durée de conservation maximale : **18 mois**Température de stockage : **-20 °C**

Autres produits requis non inclus dans le kit

- › Instrument ELITe InGenius : INT030
- › Instrument ELITe BeGenius : INT040

- › ELITe InGenius SP 1000 Extraction Cartridge : INT033SP1000
- Consommables pour les **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** (se reporter au mode d'emploi des instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius)

Protocole avec les ELITe InGenius et ELITe BeGenius

› Volume d'échantillon	600 µL	› Unité du résultat quantitatif	Unités internationales : UI/mL
› Volume de HIV1 CPE	10 µL		Copies : Copies/mL
› Volume d'élution total	50 µL	› Fréquence des contrôles	15 jours
› Volume initial d'élution de PCR	20 µL	› Fréquence de l'étalonnage	60 jours
› Volume complet de PCR Mix	20 µL		

Performance avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius

Matrice	Limite de détection	Facteur de conversion en UI	Sensibilité diagnostique : Corrélation des méthodes	Spécificité diagnostique
Plasma	60 UI/mL 26 copies/mL	2,3 UI/copie	R2 = 0,963 237 échantillons quantifiés	98,8 % 246 échantillons confirmés/ 249 échantillons testés
			Méthodes de référence : « cobas® HIV1 for use on the 4800 Systems » et « cobas® HIV1 for use on the 6800 Systems », Roche Diagnostics.	

Préparation de l'échantillon

Ce produit est destiné à être utilisé sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** avec les échantillons cliniques validés et pertinents suivants, identifiés et manipulés selon les directives du laboratoire, et prélevés, transportés et conservés dans les conditions suivantes :

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Plasma	EDTA ou ACD	≤ 2 jours	≤ 3 jours	≤ 1 mois	≤ 6 mois

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

Ne pas utiliser de plasma hémolytique car l'hémoglobine inhibe la réaction de PCR.

Procédures ELITE InGenius

L'interface graphique (GUI) du logiciel ELITE InGenius guide l'utilisateur, étape par étape, pour paramétrer l'analyse. Toutes les étapes, à savoir extraction, transcription inverse, amplification et interprétation des résultats, sont effectuées automatiquement. Deux modes de fonctionnement sont disponibles : analyse complète « Extract + PCR » (Extraction + PCR) ou « PCR Only » (PCR seulement).

Avant l'analyse

1. Mettre le ELITE InGenius en marche. Se connecter avec le nom d'utilisateur et le mot de passe. Sélectionner le mode « Closed » (Fermé).	2. Vérifier les calibrateurs : Q-PCR Standard dans le menu « Calibration » (Étalonnage). Vérifier les contrôles : Positive Control et le Negative Control dans le menu « Controls » (Contrôles). Remarque : tous les contrôles doivent avoir été analysés, approuvés et ne pas être expirés.	3. Décongeler les tubes de PCR Mix et de CPE Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s. Conserver le RT EnzymeMix dans de la glace.
4. Préparer le mélange réactionnel complet.		
Nombre d'échantillons (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL
5. Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s. Conserver le mélange réactionnel complet sur de la glace. Ne pas l'exposer à la lumière directe.		

Procédure 1 - Analyse complète : Extract + PCR (Extraction + PCR)

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile	2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 1000 µL », élution : « 50 µL »	3. Scanner les code-barres des échantillons à l'aide du lecteur de code-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : HIV1 ELITe_PL_600_50	5. Sélectionner la méthode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) et la position de l'échantillon : Extraction Tube (Tube d'extraction)	6. Charger le mélange réactionnel complet et le Internal Control dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7 Charger : la PCR Cassette (Cassette de PCR), la cartouche d'extraction, le tube d'élution, la cassette à embouts, les racks de tubes d'extraction	8. Fermer le tiroir Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

NOTE!

Si le mode « Extract Only » (Extraction seulement) est nécessaire, se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour prendre connaissance de la procédure.

Procédure 2 - PCR Only (PCR seulement)

1 à 4 : Suivre la procédure d'analyse complète décrite ci-dessus (sélectionner les protocoles de test (Assay Protocols : HIV1 ELITe_PC et HIV1 ELITe_NC ou HIV1 ELITe_STD ou HIV1 ELITe_PL_600_50)	5. Sélectionner la méthode « PCR Only » (PCR seulement) et définir la position de l'échantillon « Elution Tube » (Tube d'élution)	6. Charger le mélange réactionnel complet dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7 Charger : le rack de PCR Cassette (Cassette de PCR) et le rack de tubes d'élution avec l'acide nucléique extrait	8. Fermer le tiroir Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

Procédures ELITe BeGenius

L'interface graphique (GUI) du logiciel ELITe BeGenius guide l'utilisateur, étape par étape, pour paramétrer l'analyse. Toutes les étapes, à savoir l'extraction, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats, sont effectuées automatiquement. Deux modes de fonctionnement sont disponibles : analyse complète « Extract + PCR » (Extraction + PCR) ou « PCR Only » (PCR seulement).

Avant l'analyse

1. Mettre le ELITe BeGenius en marche. Se connecter avec le nom d'utilisateur et le mot de passe. Sélectionner le mode « Closed » (Fermé).	2. Vérifier les calibrateurs : Q-PCR Standard dans le menu « Calibration » (Étalonnage). Vérifier les contrôles : Positive Control et le Negative Control dans le menu « Controls » (Contrôles). Remarque : tous les contrôles doivent avoir été analysés, approuvés et ne pas être expirés.	3. Décongeler les tubes de PCR Mix et de CPE Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s. Conserver le RT EnzymeMix sur de la glace.
--	--	---

4. Préparer le mélange réactionnel complet.			5. Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s. Conserver le mélange réactionnel complet sur de la glace. Ne pas l'exposer à la lumière directe.
Nombre d'échantillons (N)	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	
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$N = 24$	580 μL	8,7 μL	

Procédure 1 - Analyse complète : Extract + PCR (Extraction + PCR)

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile puis cliquer sur le mode d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	2. Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) avec les échantillons à code-barres dans la zone de refroidissement. La lecture des code-barres est déjà active	3. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 600 μL », Éluat : « 50 μL »
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : HIV1 ELITE_Be_PL_600_50	5. Imprimer les étiquettes à code-barres pour les apposer sur les tubes d'élution vides. Charger les tubes dans le « Elution Rack » (Rack d'élution) et insérer ce dernier dans la zone de refroidissement	6. Charger le mélange réactionnel complet et le CPE dans le « Reagent Rack » (Rack d'élution) puis insérer ce dernier dans la zone de refroidissement
NOTE! Si une deuxième extraction est exécutée, répéter les étapes 2 à 4	7 Charger : les embouts à filtre, le rack d'extraction et le portoir de PCR	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle
9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats		

NOTE!

Si le mode « Extract Only » (Extraction seulement) est nécessaire, se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour prendre connaissance de la procédure.

Procédure 2 - PCR Only (PCR seulement)

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile puis cliquer sur le mode d'analyse « PCR Only » (PCR seulement)	2. Charger les tubes à code-barres contenant les acides nucléiques extraits dans le « Elution Rack » (Rack d'élution), puis insérer ce dernier dans la zone de refroidissement	3. Pour les <u>étalons</u> et les <u>contrôles</u> : pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp.Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions). Pour les <u>éluats</u> : pour chaque « Position », saisir le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (Volume d'éluat extrait).
3. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt (HIV1 ELITe_Be_PC et HIV1 ELITe_Be_NC ou HIV1 ELITe_Be_STD ou HIV1 ELITe_Be_PL_600_50)	5. Charger le PCR-Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) et insérer ce dernier dans la Cooler Unit. Charger les embouts à filtre et le portoir de PCR avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR)	6. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle
7 Visualiser, approuver et enregistrer les résultats		

Appendix B HIV1 ELiTe MGB Kit utilisé en association avec MyGenius PRO



ATTENTION

Ce document est une version simplifiée du mode d'emploi officiel. Veuillez vous reporter au document complet avant toute utilisation : www.elitechgroup.com

Application

Le produit **HIV1 ELiTe MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test quantitatif de transcription inverse et de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la détection et la quantification de l'ARN du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1), extrait d'échantillons cliniques.

Le test est validé en association avec les instruments **ELiTe InGenius®**, **ELiTe BeGenius®** et **MyGenius PRO®** (nom d'enregistrement ELIVERSE®), des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, de transcription inverse, de PCR en temps réel et d'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons humains de plasma prélevé sur EDTA ou ACD.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide à la prise en charge des individus infectés par le VIH-1 recevant une thérapie antivirale.

Les résultats doivent être interprétés en association avec l'ensemble des observations cliniques pertinentes et des résultats du laboratoire.

Le produit n'est pas destiné au dépistage ou à la détection de la présence ou de l'exposition à des agents transmissibles dans le sang, les composants sanguins, les cellules, les tissus, les organes ou l'un de leurs dérivés, afin d'évaluer leur aptitude à la transfusion, à la transplantation ou à l'administration de cellules. Le produit n'est pas destiné à être utilisé comme un test de diagnostic pour confirmer la présence d'une infection par le VIH-1.

Séquence amplifiée

Séquence	Gène	Fluorophore	Canal
Cible	Gène de la polymérase du VIH-1 (région intégrase)	FAM	HIV1
Internal Control	MS2	AP525	IC

Matrices validées

› Plasma prélevé sur EDTA	› Plasma prélevé sur ACD
---------------------------	--------------------------

Contenu du kit

HIV1 ELITe MGB Mix		HIV1 ELITe Standard		HIV1 - ELITe Positive Control	HIV1 Internal Control
 X 4	 X 2	    X 1		 X 2	 X 8
PCR Mix 4 tubes de 600 µL 96 réactions par kit 5 cycles de congélation/décongélation par tube	RT EnzymeMix 2 tubes de 20 µL 96 réactions par kit 10 cycles de congélation/décongélation par tube	Calibrateurs prêts à l'emploi : 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 jeu de 4 tubes de 160 µL 2 cycles de congélation/décongélation par tube		CP prêt à l'emploi 2 tubes de 160 µL 8 réactions par kit 4 cycles de congélation/décongélation par tube	IC prêt à l'emploi 8 tubes de 160 µL 96 extractions par kit 6 cycles de congélation/décongélation par tube

Durée de conservation maximale : **18 mois**Température de stockage : **-20 °C**

Autres produits requis non inclus dans le kit

• MyGenius PRO (EG SpA réf. : INT050) • MyGenius PRO Software version BB-04 (ou versions ultérieures)	• Internal Control Maxi (EG SpA, Réf. ICMAI) • Negative Control (EG SpA, Réf. CTRNEG) • Réactifs et consommables pour le MyGenius PRO (se reporter au mode d'emploi de l'instrument MyGenius PRO)
--	---

Protocole MyGenius PRO

› Volume d'échantillon	600 µL	› Input volume (volume initial) de PCR	20 µL
› Volume d'IC	10 µL	› Volume de Q-PCR Mix	20 µL
› Volume d'élution total	50 µL	› Fréquence des contrôles	15 jours
		› Fréquence de l'étalonnage	60 jours

Performances MyGenius PRO

Matrice	Limite de détection	Facteur de conversion en UI	Sensibilité diagnostique : Corrélation des méthodes	Spécificité diagnostique
Plasma	60 UI/mL 26 copies/mL	2,3 UI/copie	R2 = 0,963 237 échantillons quantifiés	98,8 % 246 échantillons confirmés/ 249 échantillons testés
			Méthodes de référence : « cobas® HIV1 for use on the 4800 Systems » et « cobas® HIV1 for use on the 6800 Systems », Roche Diagnostics.	

Préparation de l'échantillon

Ce produit est destiné à être utilisé sur l'instrument **MyGenius PRO** avec les échantillons cliniques suivants, identifiés selon les directives de laboratoire, et prélevés, transportés et conservés dans les conditions suivantes :

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Plasma	EDTA ou ACD	≤ 2 jours	≤ 3 jours	≤ 1 mois	≤ 6 mois

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

Ne pas utiliser de plasma hémolytique car l'hémoglobine inhibe la réaction de PCR.

Procédures MyGenius PRO

L'interface graphique (GUI) du logiciel MyGenius PRO guide l'utilisateur, étape par étape, pour paramétrer l'analyse. Toutes les étapes, à savoir l'extraction, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats, sont effectuées automatiquement. Deux modes de fonctionnement sont disponibles : analyse complète « Extract + PCR » (Extraction + PCR) ou « PCR Only » (PCR seulement) (uniquement pour les calibrateurs et les contrôles).

1. Allumer MyGenius PRO. Se connecter en mode VEILLE avec le nom d'utilisateur et le mot de passe.	2. Charger tous les consommables dans les tiroirs et vider le réservoir de déchets liquides et les bacs à déchets solides si nécessaire. Appuyer sur le bouton « Start » (Début) pour effectuer la préparation : au terme de la préparation, l'instrument passera en mode Fonctionnement.	3. Vérifier les calibrateurs : Q-PCR Standard dans le menu « Calibration » (Étalonnage). Vérifier les contrôles : Positive Control and Negative Control dans le menu « Controls » (Contrôles) Remarque : tous les contrôles doivent avoir été analysés, approuvés et ne pas être expirés.
4. Décongeler les tubes de PCR Mix e d'IC MAXI. Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s.	5. Charger les tubes de mélanges PCR dans le carrousel à réactifs en suivant les indications de l'interface graphique (GUI).	6. Charger le(s) tube(s) IC MAXI dans le portoir dédié bleu et le charger dans la zone de l'échantillonneur automatique.
7a. Si l'instrument est connecté au LIS, insérer les échantillons dans la zone de l'échantillonneur automatique au moyen des portoirs dédiés en fonction du diamètre des tubes utilisés. L'extraction démarre automatiquement. 7b. Si l'instrument n'est pas connecté au LIS, dans la liste des échantillons, appuyer sur « Assign test » (Assigner test), lire le code-barres des échantillons à l'aide du lecteur de code-barres externe, sélectionner la matrice de plasma et assigner le protocole de test (Assay protocol) « HIV1 ELITE_My_PL_IU_600_50 » ou « HIV1 ELITE_My_My_PL_cmL_600_50 », insérer les échantillons dans la zone de l'échantillonneur automatique en utilisant les portoirs dédiés en fonction du diamètre des tubes utilisés. L'extraction démarre automatiquement.		



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185, 10149 Torino ITALY
Tél. +39-011 976 191
Fax +39-011-936-76-11
E-mail : emd.support@elitechgroup.com
Site internet : www.elitechgroup.com