

Instructions for use

HIV1 ELITe MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real



REF RTK600ING

UDI 08033891487126

CE **IVD**
0123

HISTÓRICO DE ALTERAÇÕES

Rev.	Aviso de alteração	Data (dd/mm/aa)
08-R	Expansão de utilização do produto em associação com o instrumento MyGenius PRO (REF INT050) com matrizes de Plasma EDTA ou ACD. Atualização para o "Modelo 2 versão 4.0.2" dos protocolos de ensaio para os instrumentos ELITE InGenius® (REF INT030) e ELITE BeGenius® (REF INT040). Novos gráficos e definição de conteúdos das instruções de utilização.	16/09/26
07-R	Substituição do tubo de 2mL 953-217 e da tampa branca 953-223 pelo tubo de 2mL 953-065 relativo aos tubos de componentes de PCR Mix	01/08/25
06-R	Atualização para conformidade com o Regulamento (UE) 2017/746 em matéria de requisitos de dispositivo médico para diagnóstico in vitro (IVDR). Upgrade dos desempenhos analíticos e de diagnóstico no parágrafo CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO NOTE A composição do produto permanece inalterada	16/06/25
05	Outros produtos necessários: nota relativa à disponibilidade de HIV1 ELITE Standard (Ref STD600ING) e HIV1 - ELITE Positive Control (Ref CTR600ING) como produtos separados. Procedimento ELITE BeGenius: instruções detalhadas para preparar a mistura de reação completa para amostras com número superior a 12 em associação com o instrumento ELITE BeGenius. Procedimento ELITE BeGenius: correção de digitação na descrição do protocolo de ensaio. Avisos e precauções específicos para os componentes: prolongamento do período de utilização de cada tubo de reagente até 60 dias a partir da primeira abertura.	07/06/24
00 — 04	Desenvolvimento de novo produto e alterações subsequentes	-

ÍNDICE

1 Utilização prevista	4
2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO	4
3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO	4
4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO	6
5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	6
6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	7
7 AVISOS E PRECAUÇÕES	7
8 AMOSTRAS E CONTROLOS para o ELITe InGenius, ELITe BeGenius E MyGenius PRO	9
9 PROCEDIMENTO do ELITe InGenius	12
10 PROCEDIMENTO do ELITe BeGenius	19
11 PROCEDIMENTO MyGenius PRO	25
12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO	32
13 REFERÊNCIAS	47
14 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	47
15 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	48
16 SÍMBOLOS	53
17 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES	54
18 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	54
Appendix A QUICK START GUIDE	56
Appendix B QUICK START GUIDE	62

1 Utilização prevista

O produto **HIV1 ELITE MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio quantitativo de transcrição reversa e PCR em tempo real de ácidos nucleicos para a deteção e a quantificação do ARN do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV1), extraído de amostras clínicas.

O ensaio é validado em associação com os instrumentos **ELITE InGenius®**, **ELITE BeGenius®** e **MyGenius PRO®** (nome de registo ELIVERSE®), sistemas automatizado e integrado para a extração, transcrição reversa, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de plasma colhido em EDTA ou em ACD.

O produto está previsto para utilização como auxiliar na gestão de indivíduos infetados por HIV1 que estejam a realizar terapia antiviral.

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

O produto não se destina a ser utilizado para rastrear ou detetar a presença ou a exposição a agentes transmissíveis no sangue, componentes sanguíneos, células, tecidos, órgãos ou quaisquer dos seus derivados, a fim de avaliar a sua adequação para transfusão, transplante ou administração de células. O produto não se destina a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção pelo HIV1.

2 PRINCÍPIOS DO ENSAIO

Este é um ensaio quantitativo de transcrição reversa e PCR em tempo real de um passo para a deteção de ARN de HIV1 de amostras, retrotranscritas e, em seguida, amplificadas usando uma mistura de reação completa que contém primers e sondas com tecnologia ELITE MGB® e TaqMan MGB.

As sondas ELITE MGB e TaqMan MGB são ativadas quando hibridizam com os correspondentes produtos da PCR. **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** e **MyGenius PRO** monitorizam o aumento da fluorescência e calculam os ciclos de limiar (Ct) e as temperaturas de fusão (Tm). A quantidade de HIV1 é calculada com base numa curva de calibração armazenada.

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

3 DESCRIÇÃO DO PRODUTO

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

- **HIV1 ELITE MGB Mix**

Este componente fornece os seguintes dois subcomponentes:

- **HIV1 PCR Mix**, uma mistura PCR otimizada e estabilizada que contém:
 - primers e sondas específicos para o HIV1, gene da polimerase (região da integrase), detetados no canal HIV1; as sondas são estabilizadas por MGB®, inativadas pelo Eclipse Dark Quencher® e identificadas pelo corante FAM®, and labeled by FAM dye,
 - primers e sondas específicos para Internal Control (IC), específico para uma região do ARN genómico MS2 do fago, detetado no Canal IC; a sonda é estabilizada pelo MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher e identificada com o corante AquaPhluor® AP525,
 - tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótidos e ADN polimerase de início a quente.
- **RT EnzymeMix**, uma mistura otimizada e estabilizada de enzimas para a transcrição reversa.

O **HIV1 ELITE MGB Mix** contém reagentes suficientes para **96 testes** no **ELITE InGenius**, no **ELITE BeGenius** e no **MyGenius PRO**, com 20 µL de **HIV1 PCR Mix** e 0,3 µL de **RT EnzymeMix** usados por reação.

- **HIV1 ELITE Standard**

Este componente fornece os subcomponentes **HIV1 Q-PCR Standard**, quatro soluções estabilizadas de ADN de plasmídeo com a região do gene da polimerase do HIV1 amplificada a título conhecido. O HIV1 ELITE Standard tem de ser usado com HIV1 ELITE MGB Mix no ELITE InGenius, no ELITE BeGenius e no MyGenius PRO para calcular a curva de calibração do sistema (lote do produto e instrumento) para a quantificação de HIV1.

NOTE

A concentração de ADN de plasmídeo foi determinada por espectrofotómetro de UV como cópias/mL, que estava relacionada com a “WHO International Standard 4th HIV-1 International Standard” (NIBSC, UK, código 16/194) por um fator de conversão permitindo a quantificação de HIV1 em Unidades Internacionais/mL (IU/mL).

O **HIV1 ELITE Standard** contém reagentes suficientes para **2 sessões no ELITE InGenius**, no **ELITE BeGenius** e no **MyGenius PRO**, sendo usados 20 µL por reação.

- **HIV1 - ELITE Positive Control**

Este componente fornece o subcomponente **HIV1 Positive Control**, uma solução estabilizada de ADN de plasmídeo com a região do gene da polimerase do HIV1 amplificada a **título conhecido**. O **HIV1 Positive Control** tem de ser usado com a **HIV1 ELITE MGB Mix** no **ELITE InGenius**, no **ELITE BeGenius** e no **MyGenius PRO** para gerar os gráficos de controlo para a verificação do sistema (lote do produto e instrumento).

O **HIV1 Positive Control** contém reagentes suficientes para **8 sessões no ELITE InGenius**, no **ELITE BeGenius** e no **MyGenius PRO (4 testes em cada tubo)**, com 20 µL usados por reação.

- **HIV1 Internal Control**

- Este componente contém o subcomponente **HIV1 CPE** (Internal Control exógeno), uma solução estabilizada de ARN genómico MS2. O **HIV1 CPE** tem de ser usado no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius** e é adicionado a reagentes de extração para validar os resultados de amostras negativas para HIV1.

- O **HIV1 Internal Control** contém reagentes suficientes para **96 testes no ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius (12 testes em cada tubo)**, com 10 µL usados por reação.

O **HIV1 Internal Control NÃO** é usado em associação com o **MyGenius PRO**, para o qual o produto Internal Control Maxi (ref. ICMAXI) (não incluído no kit) deve ser utilizado.

4 MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

Table 1

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

5 MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Exaustor de fluxo de ar laminar.
- Luvas de nitrilo sem pó descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Microcentrífuga de bancada (~5.000 RPM).
- Microcentrífuga de bancada (~13.000 RPM).
- Micropipetas e pontas esterilizadas com filtro de aerossóis ou pontas esterilizadas de deslocação positiva (intervalo de volume: 0,5 - 1000 µL).
- Tubos com tampa de rosca esterilizados de 2,0 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 72.694.005).
- Tubos com tampa de rosca esterilizados de 0,5 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 72.730.005)
- Água de qualidade para biologia molecular.

6 OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

Os reagentes para a extração do ARN da amostra e os consumíveis **não** são fornecidos com este produto. Para a extração automática de ácidos nucleicos, transcrição reversa, a PCR em tempo real e a interpretação dos resultados das amostras, são necessários os produtos seguintes:

Table 2

Instrumento e software	Produto e reagentes
ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, ref. INT030) Software ELITE InGenius versão 1.4.0 (ou mais recente) HIV1 ELITE_STD , protocolo de ensaio com parâmetros para a análise dos calibradores HIV1 ELITE_PC , Assay Protocol (Protocolo de ensaio) com parâmetros para análise do Positive Control HIV1 ELITE_NC , Assay Protocol (Protocolo de ensaio) com parâmetros para análise do Negative Control HIV1 ELITE_PL_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de plasma	ELITE InGenius SP 1000 (EG SpA, ref. INT033SP1000) Consumíveis ELITE InGenius e ELITE BeGenius (ver instruções de utilização do ELITE InGenius e do ELITE BeGenius)
ELITE BeGenius (EG SpA, ref. INT040) Software ELITE BeGenius versão 2.3.0. (ou superior) HIV1 ELITE_Be_STD , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de calibradores HIV1 ELITE_Be_PC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control HIV1 ELITE_Be_NC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control HIV1 ELITE_Be_PL_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de plasma	
MyGenius PRO (EG SpA ref: INT050). Software MyGenius PRO versão BB-04 (ou posterior) HIV1 ELITE_My_PC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control HIV1 ELITE_My_NC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control HIV1 ELITE_My_STD , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de calibradores HIV1 ELITE_My_PL_IU_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise da amostra de plasma e resultados em IU/mL HIV1 ELITE_My_PL_cmL_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise da amostra de plasma e resultados com cópias/mL	Internal Control Maxi (EG SpA, Ref. ICMAXI) Negative Control (EG SpA, Ref. CTRNEG) Consumíveis MyGenius PRO (ver instruções de utilização do MyGenius PRO),

7 AVISOS E PRECAUÇÕES

Este produto foi concebido para utilização exclusiva in-vitro.

7.1 Avisos e precauções gerais

- Manuseie e elimine todas as amostras biológicas como se fossem infecciosas. Evite o contacto direto com as amostras biológicas. Evite salpicos ou vaporizações. Tubos, pontas e outros materiais que entrarem em contacto com as amostras biológicas devem ser tratados durante, pelo menos, 30 minutos com hipoclorito de sódio (lixívia) a 3% ou em autoclave durante uma hora a 121 °C antes da eliminação.
- Manuseie e elimine todos os reagentes e todos os materiais usados na realização do ensaio como se fossem infecciosos. Evite o contacto direto com os reagentes. Evite salpicos ou vaporizações. Os resíduos devem ser manuseados e eliminados em conformidade com as normas de segurança adequadas. Os materiais

combustíveis descartáveis devem ser incinerados. Os resíduos líquidos que contenham ácidos ou bases devem ser neutralizados antes da eliminação. Não permita que os reagentes de extração entrem em contacto com hipoclorito de sódio (lixívia).

- Use vestuário e luvas de proteção adequados e proteja os olhos e o rosto.
- Nunca deve pipetar soluções com a boca.
- Não coma, beba, fume ou aplique produtos cosméticos nas áreas de trabalho.
- Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.
- Elimine os reagentes remanescentes e os desperdícios em conformidade com os regulamentos em vigor.
- Leia atentamente todas as instruções fornecidas antes de efetuar o ensaio.
- Durante a realização do ensaio, siga as instruções fornecidas com o produto.
- Não utilize o produto após a data de validade indicada.
- Use apenas os reagentes fornecidos com o produto e os recomendados pelo fabricante.
- Não use reagentes de lotes diferentes.
- Não use reagentes de outros fabricantes.

7.2 Avisos e precauções para biologia molecular

Os procedimentos de biologia molecular requerem profissionais qualificados e com formação, para evitar o risco de resultados incorretos, especialmente devido à degradação de ácidos nucleicos na amostra ou à contaminação da amostra por produtos da PCR.

São necessárias batas de laboratório, luvas e ferramentas para preparação da sessão de trabalho. É necessário ter disponíveis áreas separadas para o teste de biologia molecular e o teste de cultura microbiológica. Nunca manuseie a cultura líquida ou sólida na área designada para as reações de extração/amplificação.

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

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

Os produtos da extração têm de ser manuseados com vista a impedir a dispersão no meio ambiente e a evitar a contaminação da área de trabalho do instrumento.

A PCR Cassette deve ser manuseada com cuidado e nunca deve ser aberta, para evitar a difusão e a contaminação por transferência.

7.3 Avisos e precauções específicos para os componentes

Table 3

Componente (Subcomponente)	Temperatura de armazenamento	Utilização a partir da primeira abertura	Ciclos de congelação/descongelação	Estabilidade no bloco (ELITe InGenius e ELITe BeGenius)	Estabilidade no bloco (MyGenius PRO)
HIV1 ELITe MGB Mix (HIV1 PCR Mix)	-20°C ou inferior (protegido da luz)	60 dias	até cinco	não aplicável	não aplicável
HIV1 ELITe MGB Mix (RT EnzymeMix)	-20°C ou inferior	60 dias	até dez vezes, durante até dez minutos a +2 / +8 °C	não aplicável	não aplicável

Table 3 (continued)

Componente (Subcomponente)	Temperatura de armazenamento	Utilização a partir da primeira abertura	Ciclos de congelação/ descongelação	Estabilidade no bloco (ELITE InGenius e ELITE BeGenius)	Estabilidade no bloco (MyGenius PRO)
HIV1 ELITE Standard (HIV1 Q-PCR Standard)	-20°C ou inferior	60 dias	até duas	2 sessões separadas de 2 horas cada	até 2 horas por 4 vezes*
HIV1 - ELITE Positive Control (HIV1 Positive Control)	-20°C ou inferior	60 dias	até quatro	4 sessões separadas de 3 horas cada	até 3 horas por 4 vezes*
HIV1 Internal Control (HIV1 CPE)	-20°C ou inferior	60 dias	até seis	6 sessões separadas de 3 horas cada	não aplicável

* com ciclos intermédios de congelação/descongelação

8 AMOSTRAS E CONTROLOS para o ELITE InGenius, ELITE BeGenius E MyGenius PRO

8.1 Amostras e protocolos de ensaio

Este produto destina-se a ser usado no **ELITE InGenius**, no **ELITE BeGenius** e no **MyGenius PRO** com as amostras clínicas relevantes validadas identificadas e manuseadas de acordo com as diretrizes laboratoriais, e colhidas, transportadas e armazenadas sob as seguintes condições:

Table 4

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte / armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Plasma	EDTA ou ACD	≤ 2 dias	≤ 3 dias	≤ 1 mês	≤ 6 meses

EDTA, ácido etilenodiamino tetra-acético; ACD, ácido-citrato-dextrose

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

Para realizar o teste das amostras no **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius**, devem ser usados os seguintes protocolos de ensaio. Estes protocolos IVD foram especificamente validados com o **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** com a matriz indicada.

Table 5 Protocolo de ensaio para o HIV1 ELITE MGB Kit

Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Plasma	ELITE InGenius	HIV1 ELITE_PL_600_50	cópias/mL / IU/mL	Volume inicial de extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicação: NÃO Fator de diluição: 1,7 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
	ELITE BeGenius	HIV1 ELITE_Be_PL_600_50	cópias/mL / IU/mL	Volume inicial de extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL

Para realizar os testes de amostras no **MyGenius PRO**, devem ser usados os seguintes protocolos de ensaio. Estes protocolos IVD foram especificamente validados com os ELITE MGB Kits e o **MyGenius PRO** com as matrizes indicadas.

Table 6 Protocolos de ensaio para HIV1 ELITE MGB Kit e MyGenius PRO

Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Plasma ACD ou EDTA	My Genius PRO	HIV1 ELITE_My_PL_IU_600_50	IU/mL	Volume inicial de extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
		HIV1 ELITE_My_PL_cmL_600_50	cópias/mL	Volume inicial de extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL

NOTE

Verifique se o tubo primário e o volume da amostra são compatíveis com o ELITE InGenius, o ELITE BeGenius ou o MyGenius PRO, seguindo as instruções de utilização dos instrumentos.

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

Se necessário, 600 µL de amostra devem ser transferidos para um tubo de extração (para o ELITE InGenius) ou para um tubo Sarstedt de 2 mL (para o ELITE BeGenius) e 660 µL de amostra devem ser transferidos para um tubo Sarstedt de 2 mL (para MyGenius PRO).

NOTE

A pipetagem de amostras do tubo principal para o **tubo de extração** ou o **tubo Sarstedt de 2 mL** pode **gerar contaminação**. Utilize as pipetas adequadas e siga todas as recomendações reportadas na secção "7 AVISOS E PRECAUÇÕES page 7".

Os ácidos nucleicos purificados podem ser deixados à temperatura ambiente durante 16 horas e armazenados a -20 °C ou abaixo durante não mais de um mês.

Consulte "Substâncias Potencialmente Interferentes" na [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO page 32](#) para verificar os dados relativos a substâncias interferentes.

Não use plasma colhido em heparina, a qual é um conhecido inibidor da PCR.

Não use plasma hemolítico, uma vez que a hemoglobina inibe a reação de PCR.

8.2 Calibradores e controlos da PCR

A curva de calibração tem de ser gerada e aprovada para cada lote de reagente de PCR.

- Para a curva de calibração, utilize os quatro níveis de produto **HIV1 ELITe Standard**, fornecido com este kit, com os protocolos do ensaio **HIV1 ELITe_STD** ou **HIV1 ELITe_Be_STD** ou **HIV1 ELITe_My_STD**.

NOTE

As concentrações de Q – PCR Standards são expressas em cópias/reação (10^5 cópias / rxn, 10^4 cópias / rxn, 10^3 cópias / rxn, 10^2 cópias / rxn). Consulte "Incerteza da curva de standard" em [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)

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

- Para o Positive Control, use o produto **HIV1 - ELITe Positive Control**, fornecido com este kit, com os protocolos de ensaio **HIV1 ELITe_PC** ou **HIV1 ELITe_Be_PC** ou **HIV1 ELITe_My_PC**,
- Para o Negative Control, utilize água de qualidade para biologia molecular (não fornecida com este kit) com os protocolos de ensaio **HIV1 ELITe_NC** ou **HIV1 ELITe_Be_NC** ou utilize o **Negative Control** (não fornecido com este kit) com o protocolo de ensaio **HIV1 ELITe_My_NC**.

NOTE

O **ELITe InGenius**, o **ELITe BeGenius** e o **MyGenius PRO** permitem a geração e o armazenamento da curva de calibração e a validação do controlo de PCR para cada lote de reagente de PCR. As curvas de validação expiram após **60 dias** e, nesse momento, é necessário voltar a executar a calibração. Os resultados do controlo da PCR expiram **após 15** e, nesse momento, é necessário voltar a executar os controlos positivos e negativos.

Os Calibradores e os Controlos da PCR devem ser novamente testados se ocorrer algum dos seguintes eventos:

- For usado um novo lote de reagentes,
- Os resultados da análise de controlo da qualidade se encontrarem fora da especificação (ver o parágrafo seguinte),
- For realizada qualquer manutenção ou assistência significativa nos instrumentos **ELITe InGenius**, **ELITe BeGenius** ou **MyGenius PRO**.

8.3 Controlos da qualidade

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

9 PROCEDIMENTO do ELITe InGenius

O procedimento para uso do **HIV1 ELITe MGB Kit** com o **ELITe InGenius** é composto por três passos:

Table 7

PASSO 1	Verificação da prontidão do sistema	
PASSO 2	Preparação da sessão	A) Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])
		B) Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
		C) Execução da calibração (PCR Only [Apenas PCR])
		D) Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
PASSO 3	Revisão e aprovação de resultados	1) Validação da Curva de calibração
		2) Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control
		3) Validação dos resultados das amostras
		4) Elaboração do relatório do resultado da amostra

9.1 PASSO 1 – Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- ligue o **ELITe InGenius** e inicie sessão no modo “**CLOSED**” (fechado),
- - no menu “Calibração” na página inicial, verifique se os Calibradores (**Q - PCR Standard**) estão aprovados e válidos (Estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja calibradores válidos para o lote **PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito nas secções seguintes,
- no menu “Controlos” na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**Positive Control, Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,
- selecione o tipo de execução, seguindo as instruções na Interface Gráfica do Utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilize os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA. (ver “Amostras e Controlos”).

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

9.2 PASSO 2 - Configuração da sessão

O **HIV1 ELITe MGB Kit** pode ser usado no **ELITe InGenius** para realizar:

- Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR]),
- Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR]),
- Execução de calibração (Apenas PCR),
- Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR]).

Todos os parâmetros requeridos estão incluídos no Assay Protocol (Protocolo de ensaio) disponível no instrumento e são automaticamente carregados quando o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) é selecionado.

NOTE

O ELITe InGenius pode ser ligado ao “Laboratory Information Server” (Servidor de Informações Laboratoriais - LIS), que permite descarregar a informação da sessão. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

Antes de configurar uma execução:

1. Descongele os tubos da **HIV1 PCR Mix** necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para **24 testes** em condições otimizadas (5 ou mais testes por sessão). Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

Proteja a **PCR Mix** da luz enquanto descongela, dado que este reagente é fotossensível.

2. Use os tubos **RT EnzymeMix** necessários. Cada tubo é suficiente para **48 testes** em condições otimizadas (5 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

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

3. Prepare um tubo de 2 mL (Sarstedt, ref. 72.694.005, não incluído no kit) para a **mistura de reação completa** e identifique-o com um marcador de tinta permanente.
4. Calcule os volumes necessários de **HIV1 PCR Mix** e **RT EnzymeMix** para preparar a **mistura de reação completa** com base no número de amostras (N) a serem analisadas, conforme descrito na tabela seguinte.

Table 8

Número de amostras (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. Prepare a **mistura de reação completa** transferindo para o tubo de 2 mL identificado os volumes calculados dos dois componentes. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

A **mistura de reação completa** pode ser usada dentro de **7 horas** se mantida num bloco refrigerado (durante 2 sessões de 3 horas cada e o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão). A mistura de reação completa **não pode** ser guardada para reutilização.

NOTE

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

Para configurar um dos quatro tipos de execução, siga os passos abaixo diante da GUI:

Table 9

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair +PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Se necessário, 600 µL da amostra devem ser transferidos para um Extraction Tube (Tubo de extração) anteriormente identificado. Qualquer volume em excesso será deixado no Extraction Tube (Tubo de extração) pelo ELITE InGenius. Qualquer volume em excesso será deixado no Extraction Tube (Tubo de extração) pelo ELITE InGenius. Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de eluição contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).
3	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 1000 µL e que o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluição do extraído) é de 50 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 1000 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 50 µL.
4	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras.	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a "SampleID" (SID) digitando ou lendo o código de barras.
5	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
6	Certifique-se de que o "Protocol" (Protocolo) apresentado é: "Extract + PCR" (Extrair + PCR).	Selecione "PCR Only" (Apenas PCR) na coluna "Protocol".
7	Selecione a posição de carregamento da amostra como "Primary tube" (Tubo primário) ou "Extraction Tube" (Tubo de extração) na coluna "Sample Position" (Posição da amostra). Certifique-se de que o "Dilution factor" (Fator de diluição) é "1,7" .	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]). Certifique-se de que o "Dilution factor" (Fator de diluição) é "1,7" .
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	Carregue a CPE e a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote do CPE e PCR Mix, data de expiração e número de reações por cada tubo.	Carregue a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza a CPE e o número de lote da mistura de PCR, data de validade e o número de reações para cada tubo.
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	Carregue as PCR Cassettes, os tubos de eluição, os cartuchos de extração Elite InGenius SP 1000 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos.	Carregue as PCR Cassettes, os tubos de eluição com as amostras extraídas

Table 9 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract + PCR) [Extrair +PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
15	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
16	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

Table 10

	C. Execução da calibração (PCR Only) (Apenas PCR)	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
1	Descongele os tubos de Q-PCR Standard necessários (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 temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Prepare o Negative Control transferindo pelo menos 50 µL de água de grau de biologia molecular para um "Elution tube" (Tubo de eluição), fornecido com o ELITe InGenius SP 1000 Consumable Set.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).
3	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" é de 1000 µL e que o "Extracted Elute Volume" é de 50 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 1000 µL e que o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluição do extraído) é de 50 µL.
4	Para o Q-PCR Standard, atribua a "Track" (Track), selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) (ver "Amostras e Controlos") na coluna "Assay" (Ensaio) e introduza o número de lote e a data de expiração do reagente.	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos"). Introduza o número do lote e a data de validade do Positive Control e da água de grau biológico molecular.
5	Certifique-se de que "PCR Only" (Apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol" (Protocolo).	Certifique-se de que "PCR Only" (Apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol" (Protocolo).
6	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).
7	Carregue a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote da mistura de PCR, data de validade e o número de reações para cada tubo.	Carregue a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote da mistura de PCR, data de validade e o número de reações para cada tubo.
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua os "Tip Racks" (Racks de pontas), se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Carregue as PCR Cassettes e os tubos de Q-PCR Standard.	Carregue as PCR Cassettes, o Positive Control e o Negative Control.
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.

Table 10 (continued)

	C. Execução da calibração (PCR Only) (Apenas PCR)	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
13	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
14	Prima "Start" (Iniciar)	Prima "Start" (Iniciar).

Quando a sessão tiver terminado, o **ELITe InGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

NOTE

No final da execução a restante amostra extraída no **Elution tube** (Tubo de eluição) deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 ± 10 °C durante não mais de um mês. Evite derramar a Amostra extraída.

NOTE

A **mistura de reação completa** pode ser mantida no bloco refrigerado até 7 horas (2 sessões de 3 horas cada e durante o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão). Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos antes de iniciar a sessão seguinte. Os resultados quantitativos da mistura de reação completa **não podem** ser guardados para reutilização.

NOTE

No final da execução, o **Q – PCR Standards** restante deve ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou menos. Evite derramar o **Q - PCR Standards**.

NOTE

Os **Q - PCR Standard** podem ser usados para 2 sessões separadas de 2 horas cada.

NOTE

No final da execução o restante **Positive Control** deve ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou menos. O restante negative control deve ser eliminado.

NOTE

O **Positive Control** pode ser usado para 4 sessões separadas de 3 horas cada.

NOTE

No final da execução, as **PCR Cassette** e os consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

9.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

O **ELITe InGenius** monitoriza os sinais de fluorescência do alvo e do controlo interno para cada reação e aplica automaticamente os parâmetros do Assay Protocol (Protocolo de ensaio) para gerar curvas de PCR que são então interpretadas sob a forma de resultados.

No final da execução, é automaticamente apresentado o ecrã "Results Display" (Exibição dos resultados). Neste ecrã são mostrados os resultados e informações sobre a execução. A partir deste ecrã é possível aprovar o resultado, imprimir ou guardar os relatórios ("Sample Report" (Relatório da amostra) ou "Track Report" (Relatório da calha)). Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

NOTE

O sistema **ELiTe InGenius** pode ser ligado ao “Laboratory Information System” (Sistema de Informações Laboratoriais - LIS), que permite carregar os resultados da sessão no centro de dados laboratoriais. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

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

1. Validação da Curva de calibração,
2. Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control,
3. Validação dos resultados da amostra,
4. Elaboração do relatório do resultado da amostra.

9.3.1 Validação da Curva de calibração

O **ELiTe InGenius software** interpreta os resultados do PCR para o alvo das reações do Calibrador com os parâmetros do Assay Protocol (Protocolo de ensaio) **ELiTe STD**. A Ct resultante versus a concentração produz a curva da calibração.

As curvas de calibração, específicas para o lote de reagente da PCR, são guardadas na base de dados (Calibração). Podem ser visualizados e aprovados pelos utilizadores “Administrator” (Administrador) ou “Analyst” (Analista), seguindo as instruções na GUI.

A curva da calibração expira **após 60 dias**.

NOTE

Se a curva de calibração não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem “Failed” no ecrã “Calibration”. Neste caso, os resultados não podem ser aprovados e têm de ser repetidas as reações de amplificação do Calibrador. Além disso, se as amostras foram incluídas na execução, estas não são quantificadas e também têm de ser repetidas para a geração de resultados quantitativos.

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

O **ELiTe InGenius software** interpreta os resultados da PCR para os alvos das reações de Positive Control e Negative Control com os parâmetros dos protocolos de ensaio **ELiTe_PC** e **ELiTe_NC**. Os valores de Ct resultantes são convertidos em concentrações e usados para validar o sistema (lote de reagente e instrumento).

Os resultados do positive control e negative control, específicos para o lote de reagente de PCR usado, são registados na base de dados (Controlos). Podem ser visualizados e aprovados pelos utilizadores “Administrator” (Administrador) ou “Analyst” (Analista), seguindo as instruções na GUI.

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

O **software ELiTe InGenius** processa os resultados do Positive Control e do Negative Control e gera os Gráficos de Controlo. A aprovação do Positive Control baseia-se na avaliação da quantidade logarítmica obtida, que deve estar dentro do intervalo de quantidade logarítmica esperado (gráfico PC). Isto garante que o desempenho do sistema está dentro dos critérios de aceitação. O segundo gráfico (gráfico L-J) é dedicado exclusivamente ao acompanhamento da tendência do Positive Control ao longo do tempo. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações

NOTE

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

NOTE

Se o Positive Control e Negative Control forem inválidos e as amostras tiverem sido incluídas na mesma execução, as amostras podem ser aprovadas mas os resultados não são válidos. Neste caso, o Controlo(s) e amostras falhados têm todos de ser repetidos.

9.3.3 Validação dos resultados da amostra

O **software ELITE InGenius** interpreta os resultados de PCR para a sonda de HIV1 (canal **HIV1**) e o Internal Control (canal **IC**) com os parâmetros do protocolo de ensaio **HIV1 ELITE_PL_600_50**. Os valores de Ct do alvo resultante são convertidos em concentração.

Os resultados são mostrados no ecrã “Result Display” (Exibição dos resultados).

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

Table 11

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

Os resultados da amostra são automaticamente interpretados pelo **software ELITE InGenius** usando os parâmetros do protocolo de ensaio. Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado.

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

Table 12

Resultado da execução da amostra	Interpretação
HIV1:RNA Detected, quantity equal to “XXX” copies / mL or IU / mL (HIV1:RNA detetado, quantidade igual a “XXX” cópias/mL ou IU/mL)	Foi detetado ARN de HIV1 na amostra no intervalo de medição de ensaio, a sua concentração é mostrada.
HIV1:RNA Detected, quantity below “LLOQ” copies / mL or IU / mL (HIV1:RNA detetado, quantidade abaixo “LLOQ” cópias/mL ou IU/mL)	Foi detetado ARN de HIV1 na amostra, a sua concentração é inferior ao ensaio - limite inferior de quantificação.
HIV1:RNA Detected, quantity beyond “ULOQ” copies / mL or IU / mL (HIV1:RNA detetado, quantidade além de “ULOQ” cópias/mL ou IU/mL)	Foi detetado ARN de HIV1 na amostra, a sua concentração é superior ao ensaio - limite superior de quantificação.
HIV1:RNA Not detected or below the “LoD” copies / mL or IU / mL (HIV1:RNA não detetado ou abaixo de “LoD” cópias/mL ou IU/mL)	Não foi detetado ARN de HIV1 na amostra. A amostra é negativa para ARN do alvo ou a sua concentração está abaixo do limite de deteção do ensaio.
Invalid-Retest Sample (Inválido-Testar novamente a amostra)	Resultado do ensaio inválido devido a falha do Controlo Interno (p. ex., extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

Amostras reportadas como “Invalid-Retest Sample” (Inválido-Testar novamente a amostra): neste caso, o ARN do Internal Control não foi detetado eficientemente devido a problemas nos passos de colheita, extração, transcrição reversa ou PCR da amostra (por ex. amostragem incorreta, degradação ou perda do ARN durante a extração ou inibidores no eluato), o que pode causar resultados incorretos.

Se subsistir volume da eluição suficiente, o eluato pode ser novamente testado (tal como está ou diluído) através de uma execução da amplificação no modo “PCR Only” (Apenas PCR). Se o segundo resultado for inválido, a amostra deve ser novamente testada começando a partir da extração de uma nova amostra utilizando o modo “Extract + PCR” (Extrair+PCR). (ver [15 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS page 48](#))

As amostras reportadas como "HIV1:RNA Not Detected or below "LoD" copies / mL or IU / mL" (HIV1:RNA não detetado ou abaixo de "LoD" cópias/mL ou IU/mL) são adequadas para análise mas não foi detetado ARN de HIV1. Neste caso, a amostra pode ser negativa para ARN de HIV1 ou o ARN de HIV1 está presente numa concentração abaixo do limite de detecção do ensaio (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)).

Amostras positivas do ARN de HIV1 a uma concentração abaixo do Limite de Detecção (e Limite Inferior da Quantificação) do ensaio, se detetado, são relatadas como "HIV1:RNA Detected, quantity below "LLoQ" copies / mL or IU/mL" (HIV1: RNA detetado, quantidade abaixo de "LLoQ" cópias/mL ou IU/mL) (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)).

Amostras positivas de ARN de HIV1 no Intervalo de Medição Linear (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)) são detetadas e relatadas como "HIV1:RNA Detected, quantity equal to "XXX" copies / mL or IU / mL" (HIV1:RNA detetado, quantidade igual a "XXX" cópias/mL ou IU/mL).

As amostras positivas de ARN de HIV1 que estejam acima do Limite Superior de Quantificação são relatadas como "HIV1:RNA Detected, quantity beyond "ULoQ" copies / mL or IU / mL" (HIV1:RNA detetado, quantidade além "ULoQ" cópias/mL ou IU/mL) e não são adequadas para quantificação. Se necessário a amostra pode ser diluída antes da extração ou PCR e novamente testada de forma a serem obtidos resultados dentro do intervalo de medição linear do ensaio.

NOTE

Os resultados obtidos com este ensaio devem ser interpretados em combinação com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

Os resultados da execução da Amostra são guardados na base de dados e, se válidos, podem ser aprovados (Exibição dos resultados) pelos utilizadores "Administrador" ou "Analista", seguindo as instruções na GUI. A partir da janela "Result Display" é possível imprimir e guardar os resultados da execução da amostra como "Sample Report" e "Track Report".

9.3.4 Elaboração do relatório do resultado da amostra

Os resultados da amostra são guardados na base de dados e os relatórios podem ser exportados como "Sample Report" (Relatório da amostra) e "Track Report" (Relatório da calha).

O "Sample Report" (Relatório da amostra) apresenta os detalhes dos resultados pela amostra selecionada (SID).

O "Track Report" (Relatório do track) apresenta os detalhes do resultado pelo Rastreio selecionado.

O "Sample Report" (Relatório da amostra) e o "Track Report" (Relatório da calha) podem ser impressos e assinados por pessoal autorizado.

10 PROCEDIMENTO do ELITe BeGenius

O procedimento para uso do HIV1 ELITe MGB Kit com o ELITe BeGenius é composto por três passos:

Table 13

PASSO 1	Verificação da prontidão do sistema		
PASSO 2	Preparação da sessão	A) Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])	
		B) Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])	
		C) Execução da calibração (PCR Only [Apenas PCR])	
		D) Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])	

Table 13 (continued)

PASSO 3	Revisão e aprovação de resultados	1) Validação da Curva de calibração
		2) Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control
		3) Validação dos resultados das amostras
		4) Elaboração do relatório do resultado da amostra

10.1 PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- ligue o **ELITe BeGenius** e inicie sessão no modo “**CLOSED**” (fechado),
- no menu “Calibrações” na página inicial, verifique se os Calibradores (**Q - PCR Standard**) estão aprovados e válidos (Estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja calibradores válidos para o lote **PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito nas secções seguintes,
- no menu “Controlos” na página inicial, verifique se os controlos de PCR (**Positive Control, Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,
- selecione o tipo de execução, seguindo as instruções na interface gráfica do utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilize os Protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (ver “Amostras e Controlos”).

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

10.2 PASSO 2 – Configuração da sessão

O **HIV1 ELITe MGB Kit** pode ser usado no **ELITe BeGenius** para realizar:

- A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR]),
- B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR]),
- C. Execução de calibração (PCR Only [Apenas PCR]),
- D. Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR]).

Todos os parâmetros requeridos para a sessão estão incluídos no protocolo de ensaio disponível no instrumento e são automaticamente carregados quando o protocolo de ensaio é selecionado.

NOTE

O **ELITe BeGenius** pode ser ligado ao “Laboratory Information System” (Sistema de Informações Laboratoriais - LIS), que permite descarregar a informação da sessão. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

Antes de configurar uma execução:

1. Descongele os tubos de **PCR Mix** necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para **24 testes** em condições otimizadas (5 ou mais testes por sessão). Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

Proteja a **PCR Mix** da luz enquanto a aquece, dado que este reagente é fotossensível.

2. Use os tubos **RT EnzymeMix** necessários. Cada tubo é suficiente para **48 testes** em condições otimizadas (5 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

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

3. Prepare um tubo de 2 mL (Sarstedt, ref. 72.694.005, não incluído no kit) para a **mistura de reação completa** e identifique-o com um marcador de tinta permanente.
4. Calcule os volumes necessários de **PCR Mix** e **RT EnzymeMix** para preparar a **mistura de reação completa** com base no número de amostras (N) a serem analisadas, conforme descrito na tabela seguinte.

Table 14

Número de amostras (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

5. Prepare a **mistura de reação completa** transferindo para o tubo de 2 mL identificado os volumes calculados dos dois componentes. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

A **mistura de reação completa** pode ser usada dentro de **7 horas** se mantida num bloco refrigerado (durante 2 sessões de 3 horas cada e o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão). A mistura de reação completa **não pode** ser armazenada para reutilização.

NOTE

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

Para configurar um dos quatro tipos de execução, siga os passos abaixo diante da GUI.

Table 15

	A. Execução da amostra (Extract and PCR) [Extrair e PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Se necessário, transfira 600 μL da amostra para um tubo Sarstedt de 2mL (não fornecido) anteriormente identificado. Qualquer volume em excesso será deixado no tubo Sarstedt de 2 mL pelo ELITe BeGenius. Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Se necessário, descongele os Elution tubes (Tubos de eluição) contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).

Table 15 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract and PCR) [Extrair e PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only) [Apenas PCR]
3	Retire os Suportes da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
4	Selecione o "Run mode": "Extract and PCR" (Extrair e PCR). Nota: Quando os tubos secundários "2 mL Tubes" forem carregados, use adaptadores azuis para o "Sample Rack" (Rack da amostra).	Selecione o "Run mode": "PCR Only".
5	Carregue amostras no "Sample Rack" (Suporte de amostras).	Carregue amostras no "Elution Rack".
6	Insira o "Sample Rack" (Suporte de amostras) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 5" (L5). Se necessário, para cada "Position" (Posição) insira "Sample ID" (SID). Se forem carregados tubos secundários, assinale "Tubo de 2 mL". Se os tubos secundários não possuírem código de barras, digite manualmente a "Sample ID".	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Se necessário, para cada "Position" (Posição), insira a "Sample ID" (Identificação da amostra), a "Sample matrix" (Matriz da amostra), o "Extraction kit" (Kit de extração) e o "Extracted eluate vol." (Volume de eluato extraído).
7	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
8	Certifique-se de que o Volume de entrada de extração é de 600 µL e que o "Volume de eluição extraído" é de 50 µL.	não aplicável
9	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos")	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de Ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos")
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6 usando "Lane 4" (L4).	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6 usando "Lane 4" (L4).
12	Carregue os "Elution tubes" (Tubos de eluição) no "Elution Rack" (Rack de eluição) (os tubos de eluição podem ser etiquetados com código de barras para melhorar a capacidade de localização).	não aplicável
13	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Quando mais de 12 amostras forem processadas, repita usando a "Lane 2" (L2).	não aplicável
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	não aplicável
15	Carregue CPE e a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).
16	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente da PCR Mix e/ou CPE, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Se necessário, para cada reagente da PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
17	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
18	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
19	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.

Table 15 (continued)

	A. Execução da amostra (Extract and PCR) [Extrair e PCR]	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
20	Carregue o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na área dos reagentes.	Carregue o "PCR Rack" com a "PCR Cassette" na área dos reagentes.
21	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
22	Carregue o "Extraction Rack" (rack de extração) com os cartuchos de extração "ELITe InGenius SP 1000" e os consumíveis de extração necessários.	não aplicável
23	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
24	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

Table 16

	C. Execução da calibração (PCR Only) (Apenas PCR)	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR]).
1	Descongele , se necessário Q-PCR Standard tubes (Cal1: Q-PCR Standards 10 ² , Cal2: Q-PCR Standards 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standards 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standards 10 ⁵) durante 30 minutos à temperatura ambiente. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Prepare o Negative Control transfirindo pelo menos 50 µL de água de grau biológico molecular para um "Elution tube" (Tubo de eluição), fornecido com o ELITe InGenius SP 1000 Consumable Set.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Início).	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial)
3	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação
4	Selecione o "Run mode: PCR Only".	Selecione o "Run mode": "PCR Only" (Apenas PCR)
5	Carregue os tubos de standard de Q-PCR no "Elution Rack" (Rack de eluição).	Carregue os tubos de Positive Control e Negative Control no "Elution Rack".
6	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3) Se necessário, para cada "Position" (Posição) introduza o "Reagent name" (Nome do reagente) e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações)	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3) Se necessário, para cada "Position" (Posição) introduza o "Reagent name" (Nome do reagente) e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações)
7	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
8	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
9	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
10	Carregue a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).

Table 16 (continued)

	C. Execução da calibração (PCR Only) (Apenas PCR)	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR]).
11	Insira o “ Reagent/Elution Rack ” na “Cooler Unit” na “Lane 2” (L2) se estiver disponível, ou na “Lane 1” (L1). Se necessário, para cada PCR Mix, insira o “S/N” (número de série), o “Lot No.” (número de lote), a “Exp. Date” (data de validade) e o “T/R” (número de reações).	Insira o “Reagent/Elution Rack” (Rack de reagente/ eluição) na “Cooler Unit” na “Lane 2” (L2). Se necessário, para cada PCR Mix, insira o “S/N” (número de série), o “Lot No.” (número de lote), a “Exp. Date” (data de expiração) e o “T/R” (número de reações).
12	Selecione “Next” (Próximo) para continuar.	Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
13	Verifique as pontas nos “Tip Racks” (Suporte de Ponta) na “Inventory Area” (área dos reagentes) e substitua o suporte (s) de pontas, se necessário.	Verifique as pontas nos “Tip Racks” (Suporte de Ponta) na “Inventory Area” (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.
14	Selecione “Next” (Próximo) para continuar.	Selecione “Next” (Próximo) para continuar
15	Carregue o “ PCR Rack ” com a “ PCR Cassette ” na área dos reagentes	Carregue o “ PCR Rack ” com a “ PCR Cassette ” na área dos reagentes
16	Selecione “Next” (Próximo) para continuar.	Selecione “Next” (Próximo) para continuar.
17	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
18	Prima “Start” (Iniciar)	Prima “Start” (Iniciar)

Quando a sessão tiver terminado, o **ELiTe BeGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

NOTE

No final da execução a restante amostra extraída no “**Elution tube**” (Tubo de eluição) deve ser removida do instrumento, tapada, identificada e guardada a -20 ± 10 °C durante não mais de um mês. Evite derramar a Amostra extraída.

NOTE

A **mistura de reação completa** pode ser mantida no bloco refrigerado até 7 horas (para 2 sessões de 3 horas cada e durante o tempo necessário para iniciar uma terceira sessão). Misture suavemente e centrifugue os conteúdos durante 5 segundos antes de dar início à sessão seguinte. A mistura de reação completa **não pode** ser guardada para reutilização.

NOTE

No final da execução, o **Q-PCR Standards** restante deve ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou menos. Evite derramar o Q-PCR Standards.

NOTE

O **Q- PCR Standard** pode ser usado para 2 sessões separadas de 2 horas cada.

NOTE

No final da execução, o **Positive Control** restante deve ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou menos. Evite derramar o Positive Control. O restante negative control deve ser eliminado.

NOTE

O **Positive Control** pode ser usado para 4 sessões separadas de 3 horas cada

NOTE

No final da execução, a **PCR Cassette** e os outros consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

10.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

O **ELITE BeGenius** monitoriza os sinais de fluorescência do alvo e do controlo interno para cada reação e aplica automaticamente os parâmetros do Assay Protocol (Protocolo de ensaio) para gerar curvas de PCR que são então interpretadas sob a forma de resultados.

At the end of the run, the “Results Display” screen is automatically shown. Neste ecrã são mostrados os resultados e informações sobre a execução. A partir deste ecrã é possível aprovar o resultado, imprimir ou guardar os relatórios (“Sample Report” (Relatório da amostra) ou “Track Report” (Relatório da calha)). Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

NOTE

O sistema **ELITE BeGenius** pode ser ligado ao “Laboratory Information System” (Sistema de Informações Laboratoriais - LIS), que permite carregar os resultados da sessão no centro de dados laboratoriais. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

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

1. Validação da Curva de calibração,
2. Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control,
3. Validação dos resultados da amostra,
4. Elaboração do relatório do resultado da amostra.

NOTE

Para mais informações, consulte o mesmo parágrafo do **Procedimento do ELITE InGenius**.

11 PROCEDIMENTO MyGenius PRO

O procedimento para utilização do **HIV1 ELITE MGB Kit** com o **MyGenius PRO** é composto por três passos:

Table 17

PASSO 1	Verificação da prontidão do sistema	
PASSO 2	Preparação da sessão	A) Sessão de testes de amostras (Extract + PCR [Extrair+PCR])
		B) Sessão de testes de calibração (PCR Only [Apenas PCR])
		C) Sessão de testes de Positive Control e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])
PASSO 3	Revisão e aprovação de resultados	1) Validação da Curva de calibração
		2) Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control
		3) Validação dos resultados das amostras
		4) Elaboração do relatório do resultado da amostra

11.1 PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão de testes:

- ligue o MyGenius PRO e inicie sessão; a unidade irá iniciar no modo STANDBY.
- no menu “Calibrations” (Calibrações) no ecrã inicial, verifique se os Calibradores (**Q - PCR Standard**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja calibradores válidos para o lote **PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito nas secções seguintes,
- no menu “Controls” (Controlos) no ecrã inicial, verifique se os controlos de PCR (**Positive Control, Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,
- siga as instruções na interface gráfica do utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilize os protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (ver “Amostras e Controlos”).

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

11.2 PASSO 2 – Configuração do fluxo de trabalho no sistema

OHIV1 ELITE MGB Kit pode ser usado no **MyGenius PRO** para realizar:

- Sessão de testes de amostras (Extract + PCR [Extrair+PCR])
- Sessão de testes de calibração (PCR Only [Apenas PCR])
- Sessão de testes de Positive Control e Negative Control (PCR Only [apenas PCR])

Todos os parâmetros requeridos estão incluídos no protocolo de ensaio disponível no instrumento e são automaticamente carregados quando o protocolo de ensaio é selecionado.

NOTE

O **MyGenius PRO** pode ser ligado ao “Laboratory Information System” (Sistema de Informações Laboratoriais - LIS), que permite descarregar a informação para o fluxo de trabalho. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

Antes de configurar uma sessão de testes:

1. Descongele os tubos **PCR Mix** necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Cada tubo é suficiente para **24 testes** (5 ou mais testes por sessão). Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
2. Use os tubos **RT EnzymeMix II** necessários. Cada tubo é suficiente para **48 testes**. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.
3. Prepare um tubo de 2 mL (Sarstedt, ref. 72.694.005, não incluído no kit) para a **mistura de reação completa** e identifique-o com um marcador de tinta permanente.
4. Calcule os volumes necessários de **PCR Mix** e **RT EnzymeMix II** para preparar a **mistura de reação completa** com base no número de amostras (N) a serem analisadas, conforme descrito na tabela seguinte.

Número de teste (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

Se o número de reações exceder 24 testes, prepare um tubo adicional de 2 mL contendo o número necessário de reações, seguindo as instruções fornecidas na tabela acima.

5. Prepare a **mistura de reação completa** transferindo para o tubo de 2 mL identificado os volumes calculados dos dois componentes. Misture por meio de vórtice a baixa velocidade durante 10 segundos três vezes e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.

NOTE

A **mistura de reação completa** pode ser mantida guardada no bloco refrigerado durante um máximo de 7 horas. A mistura de reação completa **não pode** ser guardada para reutilização.

NOTE

Proteja a **PCR Mix** da luz enquanto a aquece, dado que este reagente é fotossensível.

NOTE

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

Para configurar um dos três tipos de sessão de testes, siga os passos abaixo diante da GUI:

	A. Sessão de testes de amostras (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Sessão de testes de calibração (PCR Only [Apenas PCR])	C. Sessão de testes de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
1	Identifique amostras e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Se o tubo primário for compatível com os suportes MyGenius PRO, insira o tubo com as amostras nos suportes; se isso não for possível, transfira 660 µL da amostra para um tubo secundário (2 mL) previamente rotulado. Descongele os tubos Internal Control Maxi IC MAXI necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos. Cada tubo é suficiente para 72 testes.	Descongele os tubos de Q-PCR Standard necessários (Cal1: Q-PCR Standard 102, Cal2: Q-PCR Standard 103, Cal3: Q-PCR Standard 104, Cal4: Q-PCR Standard 105) à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Centrifugue os tubos de Negative Control durante 5 segundos.
2	Se o instrumento estiver ligado ao LIS, os códigos de barras das amostras são automaticamente lidos e reconhecidos pelo MyGenius PRO quando colocados na área de amostras. Se o instrumento não estiver ligado ao LIS, atribua manualmente as amostras utilizando as funções ASSIGN TEST (ATRIBUIR TESTE) ou ASSIGN SAMPLE (ATRIBUIR AMOSTRA) na página "Sample List" (Lista de amostras) da GUI, antes de as carregar no instrumento. Essas funções também permitem atribuir o protocolo de teste correto a cada amostra.	Carregue a PCR Mix e os tubos Q-PCR Standard no carrossel de reagentes refrigerado.	Carregue a PCR Mix e os tubos de Positive e Negative Controls no carrossel de reagentes refrigerado.

	A. Sessão de testes de amostras (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Sessão de testes de calibração (PCR Only [Apenas PCR])	C. Sessão de testes de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
3	No modo STANDBY , verifique se há quantidade suficiente de consumíveis para concluir o teste e se os níveis de resíduos sólidos e líquidos são adequados para o funcionamento do instrumento. Se necessário, carregue os consumíveis necessários nas gavetas adequadas e esvazie a caixa de resíduos e o tanque de líquido. Para obter informações detalhadas sobre os procedimentos de carregamento, consulte o manual do utilizador do instrumento.	No modo STANDBY , verifique se há quantidade suficiente de consumíveis para concluir o teste e se os níveis de resíduos sólidos e líquidos são adequados para o funcionamento do instrumento. Se necessário, carregue os consumíveis necessários nas gavetas adequadas e esvazie a caixa de resíduos e o tanque de líquido. Para obter informações detalhadas sobre os procedimentos de carregamento, consulte o manual do utilizador do instrumento.	No modo STANDBY , verifique se há quantidade suficiente de consumíveis para concluir o teste e se os níveis de resíduos sólidos e líquidos são adequados para o funcionamento do instrumento. Se necessário, carregue os consumíveis necessários nas gavetas adequadas e esvazie a caixa de resíduos e o tanque de líquido. Para obter informações detalhadas sobre os procedimentos de carregamento, consulte o manual do utilizador do instrumento.
4	Prima Start (Iniciar) na página inicial e aguarde que o instrumento passe para o estado "Preparation" (Preparação) e depois para "Operation" (Funcionamento).	Prima Start (Iniciar) na página inicial e aguarde que o instrumento passe para o estado "Preparation" (Preparação) e depois para "Operation" (Funcionamento).	Prima Start (Iniciar) na página inicial e aguarde que o instrumento passe para o estado "Preparation" (Preparação) e depois para "Operation" (Funcionamento).
5	Carregue a PCR Mix no carrossel de reagentes refrigerado.	Selecione "Calibration" (Calibração) a partir do ecrã "Home"	Selecione "Controls" (Controlos) a partir do ecrã "Home"
6	Reserve a abertura da porta da Área do Auto Sampler e carregue as amostras e o IC MAXI.	Selecione na página Calibration (Calibração) o tubo Q-PCR Standard carregado no passo 2 e, em seguida, prima "Order" (Pedir).	Selecione na página Control (Controlo) o Positive Control e o Negative Control carregados no passo 2 e, em seguida, prima "Order" (Pedir).
7	Feche a porta do Auto Sampler e a sessão de testes inicia-se.		

Assim que é obtido um resultado, o **MyGenius PRO** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e guardar o relatório final.

NOTE

No final da sessão de testes, o restante **Q - PCR Standard** pode ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou menos. Evite derramar o Q - PCR Standard.

NOTE

O **Q- PCR Standard** pode ser utilizado para 2 calibrações, deixando-o no instrumento durante um máximo de 2 horas para cada calibração.

NOTE

No final da sessão de testes, o **Positive Control** restante deve ser removido do instrumento, tapado e guardado a -20 °C ou menos. Evite o derrame do **Positive Control**. O **Negative Control** restante deve ser eliminado.

NOTE

O **Positive Control** pode ser utilizado para 4 calibrações, deixando-o no instrumento durante um máximo de 3 horas para cada calibração.

NOTE

Quando necessário ou quando o instrumento o exigir, retire da gaveta do instrumento a **PCR Cassette** e os outros consumíveis têm de ser eliminados seguindo todos os regulamentos governamentais e ambientais. Evite derramar os produtos de reação.

NOTE

O **MyGenius PRO** pode ser ligado ao “Laboratory Information System” (Sistema de Informações Laboratoriais - LIS), que permite descarregar a informação da sessão. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

11.3 PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

O **MyGenius PRO** monitoriza os sinais de fluorescência do alvo e do controlo interno para cada reação e aplica automaticamente os parâmetros do protocolo de ensaio para gerar curvas de PCR que são então interpretadas sob a forma de resultados.

Quando a análise de cada amostra estiver concluída, os resultados podem ser visualizados no ecrã “Results” (Resultados), que apresenta os resultados e as informações sobre as amostras. A partir deste ecrã, é possível aprovar os resultados e guardar os relatórios. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

O **MyGenius PRO** gera os resultados com o **HIV1 ELITE MGB Kit** através do seguinte procedimento:

1. Validação da Curva de calibração,
2. Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control,
3. Validação dos resultados da amostra,
4. Elaboração do relatório do resultado da amostra.

Validação da Curva de calibração

O **software MyGenius PRO** interpreta os resultados da PCR para o alvo das reações do Calibrador com os parâmetros do protocolo de ensaio **HIV1 ELITE_My_STD**. A Ct resultante versus a concentração produz a curva da calibração.

As curvas de calibração, específicas para o lote de reagente da PCR, são guardadas na base de dados (Calibrações) e podem ser visualizadas e aprovadas pelo utilizador, selecionando a calibração de interesse e a secção “View chart” (Ver gráfico).

A curva de calibração expira **após 60 dias**.

NOTE

Se a curva de calibração não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem “Error” (Erro) no ecrã “Calibrations” (Calibrações). Neste caso, os resultados não podem ser aprovados e têm de ser repetidas as reações de amplificação do Calibrador. Além disso, se as amostras foram incluídas na sessão de testes, estas não são quantificadas: neste caso, após a repetição da calibração, todos os resultados devem ser interpretados e aprovados (ver secção dedicada aos resultados das amostras).

Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control da amplificação

O **software MyGenius PRO** interpreta os resultados da PCR para o alvo do Positive Control e para o alvo do Internal Control (canal **IC**) das reações de Negative Control com os parâmetros dos protocolos de ensaio **HIV1 ELITE_My_PC** e **HIV1 ELITE_My_NC**. Os valores de Ct resultantes são convertidos em concentrações e usados para validar o sistema (lote de reagente e instrumento).

Os resultados do Positive Control e Negative Control, específicos para o lote de reagente de PCR usado, são registados na base de dados (Controlos). Estes podem ser visualizados e aprovados pelo utilizador, selecionando o controlo de interesse e a secção “View chart” (Ver gráfico).

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

O **software MyGenius PRO** processa os resultados do Positive Control e do Negative Control e gera os Gráficos de Controlo. Os resultados são analisados pelo software para garantir que os desempenhos do sistema se encontram dentro dos critérios de aceitação, mostrados nos traçados do Gráfico de controlo. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

NOTE

Se o resultado do Positive Control e Negative Control não cumprir os critérios de aceitação, é mostrada a mensagem "Error" (Erro) no ecrã "Controls" (Controlos). Neste caso, os resultados não podem ser aprovados e o Positive Control e o Negative Control têm de ser repetidos.

NOTE

Se os resultados do Positive Control ou do Negative Control forem inválidos e as amostras tiverem sido incluídas na mesma sessão de testes, as amostras não podem ser aprovadas. Neste caso, após a repetição dos controlos, todos os resultados têm de ser interpretados e aprovados (ver secção dedicada aos resultados das amostras).

Validação dos resultados da amostra

O **software MyGenius PRO** interpreta os resultados de PCR para o alvo (Canal **HIV1**) e do Internal Control (Canal **IC**) com os parâmetros do protocolo de ensaio **HIV1 ELiTe_My_PL_IU_600_50** e **HIV1 ELiTe_My_PL_cmL_600_50**. Os valores de Ct do alvo resultante são convertidos em concentração.

Os resultados são mostrados no ecrã "Results" (Resultados).

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

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

Os resultados da amostra são automaticamente interpretados pelo **software MyGenius PRO** utilizando os parâmetros dos protocolos de ensaio se os resultados dos respetivos controlos e calibração forem aprovados. Se as calibrações e os controlos válidos não estiverem presentes e aprovados quando os resultados das amostras são obtidos, as amostras não podem ser interpretadas e aprovadas: neste caso, as calibrações e os controlos têm de ser aprovados e, em seguida, cada amostra tem de ser interpretada na secção "sample list" (lista de amostras) e aprovada na secção "Results" (resultados) utilizando botões específicos.

Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado.

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

Resultado da execução da amostra	Interpretação
HIV1:RNA DETECTED, QUANTITY EQUAL TO XXX COPIES/ML OR IU/ML (HIV1:RNA DETETADO, QUANTIDADE IGUAL A XXX CÓPIAS/ML OU IU/ML)	Foi detetado ARN do HIV1 na amostra no intervalo de medição de ensaio, a sua concentração é mostrada.
HIV1:RNA DETECTED, QUANTITY BELOW "LLOQ" COPIES/ML OR IU/ML (HIV1:RNA DETETADO, QUANTIDADE ABAIXO DE "LLOQ" CÓPIAS/ML OU IU/ML)	Foi detetado ARN do HIV1 na amostra, a sua concentração é inferior ao ensaio Limite inferior de quantificação
HIV1:RNA DETECTED, QUANTITY BEYOND "ULOQ" COPIES/ML OR IU/ML (HIV1:RNA DETETADO, QUANTIDADE ALÉM DE "ULOQ" CÓPIAS/ML OU IU/ML)	Foi detetado ARN do HIV1 na amostra, a sua concentração é superior ao ensaio Limite superior de quantificação

Resultado da execução da amostra	Interpretação
HIV1:RNA NOT DETECTED OR BELOW "LOD" COPIES/ML OR IU/ML (HIV1:RNA NÃO DETETADO OU QUANTIDADE ABAIXO DE "LOD" CÓPIAS/ML OU IU/ML)	Não foi detetado ARN de HIV1 na amostra. A amostra é negativa para ARN de HIV1 ou a sua concentração está abaixo do limite de detecção do ensaio.
INVALID - RETEST SAMPLE (INVÁLIDO - TESTAR NOVAMENTE A AMOSTRA)	Resultado do ensaio inválido devido a falha do Internal Control (devido, p.ex., a extração incorreta, transferência de inibidores). O teste deve ser repetido.

Amostras indicadas como "INVALID - RETEST SAMPLE" (INVÁLIDO - TESTAR NOVAMENTE AMOSTRA): caso, o ADN do Controlo Interno não foi detetado eficientemente devido a problemas nos passos de colheita, extração ou PCR da amostra (por ex. amostragem incorreta, degradação ou perda do ADN durante a extração ou inibidores na eluição), que pode causar resultados incorretos. Neste caso, a amostra deve ser novamente testada, a começar pela extração de uma nova amostra.

As amostras reportadas como "HIV1:RNA NOT DETECTED OR BELOW "LOD" COPIES/ML OR IU/ML" (HIV1: RNA NÃO DETETADO OU ABAIXO DE "LOD" CÓPIAS/ML OU IU/ML) são adequadas para análise mas não foi detetado HIV1. Neste caso, a amostra pode ser negativa para ARN de HIV1 ou o ARN de HIV1 está presente numa concentração abaixo do limite de detecção do ensaio (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)).

Amostras positivas do ARN de HIV1 a uma concentração abaixo do Limite de Detecção (e Limite Inferior da Quantificação) do ensaio, se detetado, são relatadas como "HIV1: RNA DETECTED, QUANTITY BELOW "LLOQ" COPIES/ML OR IU/ML" (HIV1:RNA DETETADO, QUANTIDADE ABAIXO DE "LLOQ" CÓPIAS/ML OU IU/ML) (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)).

Amostras positivas para ARN de HIV1 no intervalo de medição linear são detetadas e relatadas como "HIV1: RNA DETECTED, QUANTITY EQUAL TO "XXX" COPIES/ML OR IU/ML" (HIV1: RNA DETETADO, QUANTIDADE IGUAL A "XXX" CÓPIAS/ML OU IU/ML) (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)).

As amostras positivas de ARN de HIV1 que estejam acima do Limite Superior de Quantificação são relatadas como "HIV1:RNA DETECTED, QUANTITY BEYOND "ULOQ" COPIES/ML OR IU/ML" (HIV1:RNA DETETADO, QUANTIDADE ALÉM DE "ULOQ" CÓPIAS/ML OU IU/ML) (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITe InGenius, ELITe BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)) e não são adequadas para quantificação. Se necessário a amostra pode ser diluída antes da extração e novamente testada de forma a serem obtidos resultados dentro do intervalo de medição linear do ensaio.

NOTE

Os resultados obtidos com este ensaio devem ser interpretados em combinação com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

Os resultados da execução da Amostra são guardados na base de dados e, se válidos, podem ser aprovados (Exibição dos resultados) pelos utilizadores "Administrator" (Administrador) ou "Analyst" (Analista), seguindo as instruções na GUI. A partir da janela "Result Display" (Exibição de resultados) é possível imprimir e guardar os resultados da execução da amostra como "Sample Report" (Relatório de amostra) e "Track Report" (Relatório de calha).

Elaboração do relatório do resultado da amostra

Os resultados da amostra são guardados na base de dados e os relatórios podem ser exportados como "Summary Report" (Relatório de resumo) e "Details Report" (Relatório de detalhes).

O "Details Report" (Relatório de detalhes) apresenta os resultados detalhados para cada amostra selecionada (SID).

O "Summary Report" (Relatório de resumo) apresenta os resultados de interpretação para todas as amostras selecionadas (SID).

O "Details Report" (Relatório de detalhes) e o "Summary Report" (Relatório de resumo) podem ser impressos e assinados por pessoal autorizado.

12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO

12.1 Limite de detecção (LdD)

O limite de detecção (LdD) do ensaio foi determinado no instrumento ELITE InGenius, testando um painel de plasma em ACD negativo para o HIV1 reforçado com material de referência do HIV1 (4th WHO International Standard, NIBSC). Foi executada a análise de regressão Probit nos resultados, e estimou-se como LdD a concentração correspondente a 95% de probabilidade de um resultado positivo.

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Table 18

Limite de detecção (IU/mL) para amostras de plasma em ACD e ELITE InGenius			
Alvo	LdD	intervalo de confiança de 95%	
		Limite inferior	Limite superior
HIV1	60	40	122

O LdD como cópias/mL para plasma em ACD foi calculado através da aplicação do fator de conversão específico (2,3 IU/cópia) reportado em [12.13 Fator de conversão para unidades internacionais page 43](#). A sensibilidade analítica como cópias/mL está reportada a seguir.

Table 19

Limite de detecção (cópias/mL) para amostras de plasma em ACD e ELITE InGenius			
Alvo	LdD	intervalo de confiança de 95%	
		Limite inferior	Limite superior
HIV1	26	17	53

O valor do LdD calculado foi verificado testando no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius um universo de amostras de plasma em ACD e de plasma em EDTA reforçadas com material de referência certificado de HIV1 à concentração indicada.

Os resultados obtidos confirmaram a concentração indicada para o alvo do HIV1 ELITE MGB Kit no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius.

O valor LdD calculado no ELITE InGenius também é válido para o MyGenius PRO.

12.2 Equivalência da matriz: Plasma em EDTA face a Plasma em ACD

A equivalência da matriz do ensaio foi verificada utilizando amostras emparelhadas (mesmo dador) de plasma em ACD e plasma em EDTA no ELITE InGenius.

Para 30 amostras com resultados negativos para o HIV através de um imunoensaio com marcação CE IVD, foram avaliados concordância de percentagem negativa (NPA) e o coeficiente de variação (%CV) dos valores Ct do Internal Control.

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Table 20

Amostra	N	Positivo	Negativo	NPA	%CV do Ct do CI	%CV do Ct do CI (controle interno) completo
Plasma em EDTA	30	1	29	96,7%	1,80	1,81
Plasma em ACD	30	0	30		1,81	

Table 21

Amostra	N	Positivo	Negativo	PPA	VIH-1 Ct %CV	%CV do Ct do HIV1 completo
Plasma em EDTA	30	30	0	100%	1,81	1,53
Plasma em ACD	30	0	30		1,81	

Nestes testes, tanto as 30 amostras emparelhadas de plasma em EDTA e como as de plasma em ACD demonstraram desempenhos equivalentes quando analisadas pelo HIV1 ELITE MGB® Kit em associação com o ELITE InGenius.

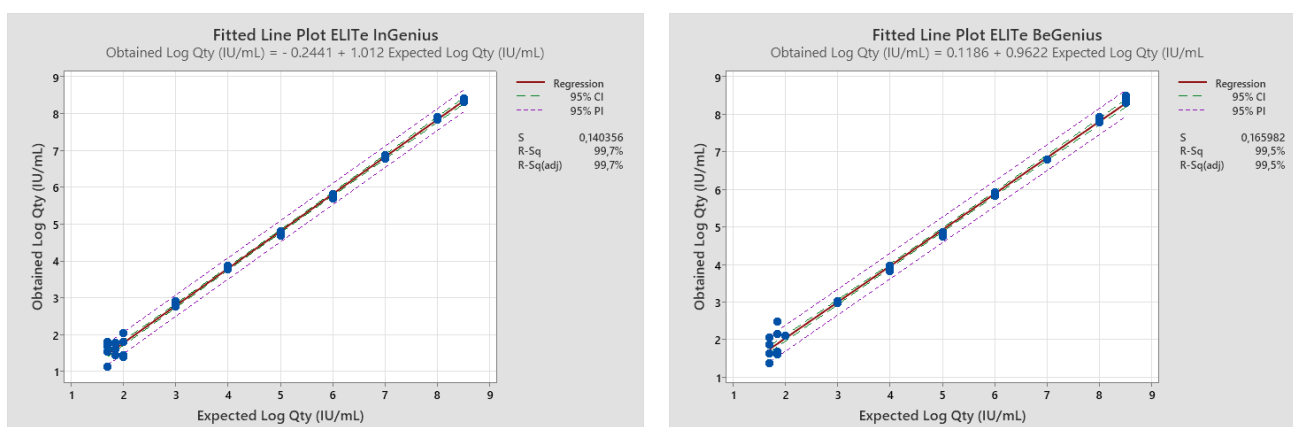
Adicionalmente, foi realizado o teste da equivalência de matrizes no estudo do intervalo de medição linear constante da secção seguinte.

A equivalência da matriz verificada em associação com o ELITE InGenius também é válida para o ELITE BeGenius e o MyGenius PRO.

12.3 Intervalo de medição linear

O intervalo de medição linear do ensaio foi determinado em associação com amostras de plasma no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius usando um painel de diluições de material de referência de HIV1 Grupo M subtipo B (ZeptoMetrix) em amostras de plasma em EDTA negativas.

Os resultados são comunicados na figura seguinte.

**Fig. 1**

O intervalo de medição linear como cópias/mL para o plasma em EDTA é calculado através da aplicação do fator de conversão específico reportado na secção seguinte.

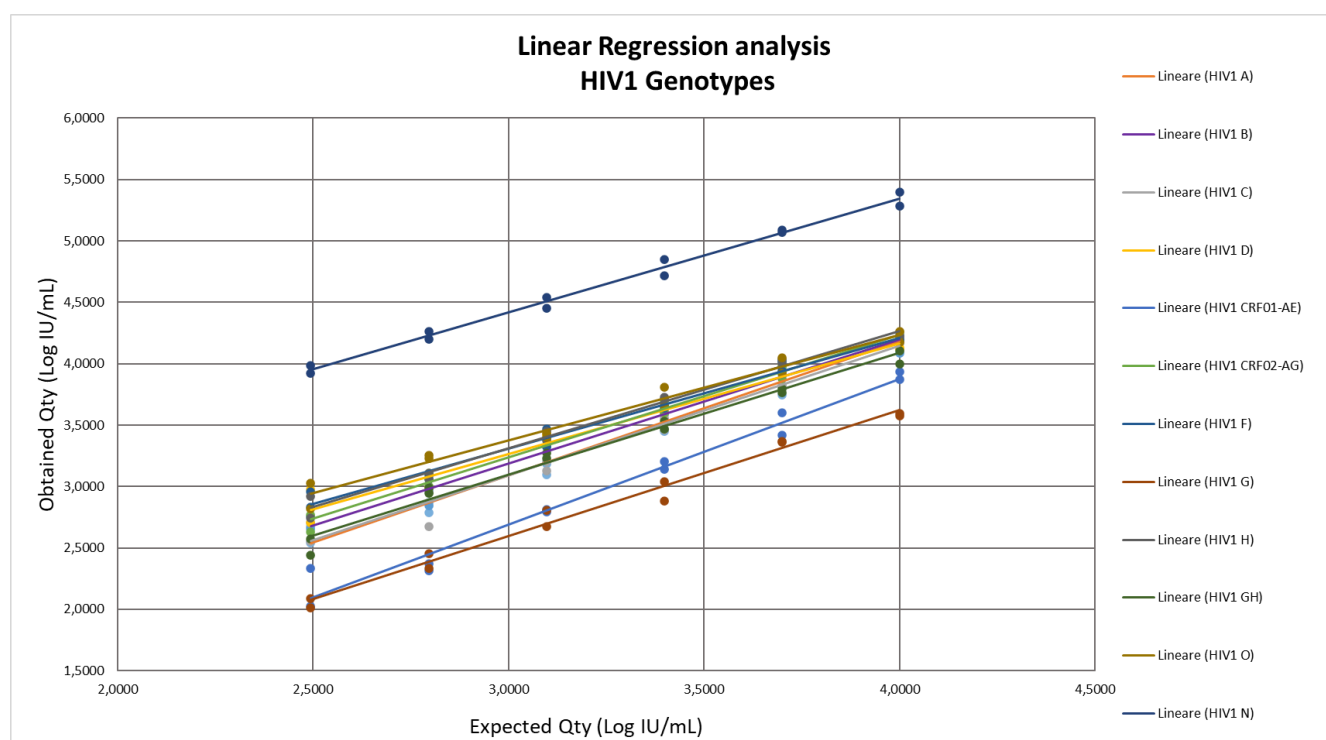
Os resultados finais estão resumidos na tabela seguinte.

Table 22 Intervalo de medição linear para amostras de plasma em EDTA com o ELiTe InGenius e o ELiTe BeGenius

Limite inferior	Limite superior
60 IU/mL	319300796 IU/mL
26 cópias/mL	138.826.433 cópias/mL

Para os principais genótipos do HIV (Grupo M Subtipo A, C, D, CRF01-AE, F, G, GH, H, CRF02-AG, Grupo O e Grupo N), o intervalo de medição linear foi verificado através da análise de plasma em EDTA negativo reforçado com material de referência do HIV (Painel do subtipo HIV-1, Instituto de Virologia, Hospital Universitário de Erlangen).

Os resultados são comunicados na figura seguinte.

**Fig. 2**

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

O intervalo de medição linear foi verificado através da análise de plasma em EDTA negativo e Plasma em ACD negativo reforçado com material de referência do HIV1 Grupo M subtipo B (Zeptometrix). Os resultados de teste correspondentes com plasma em EDTA foram comunicados como referência.

Os resultados são comunicados na figura seguinte.

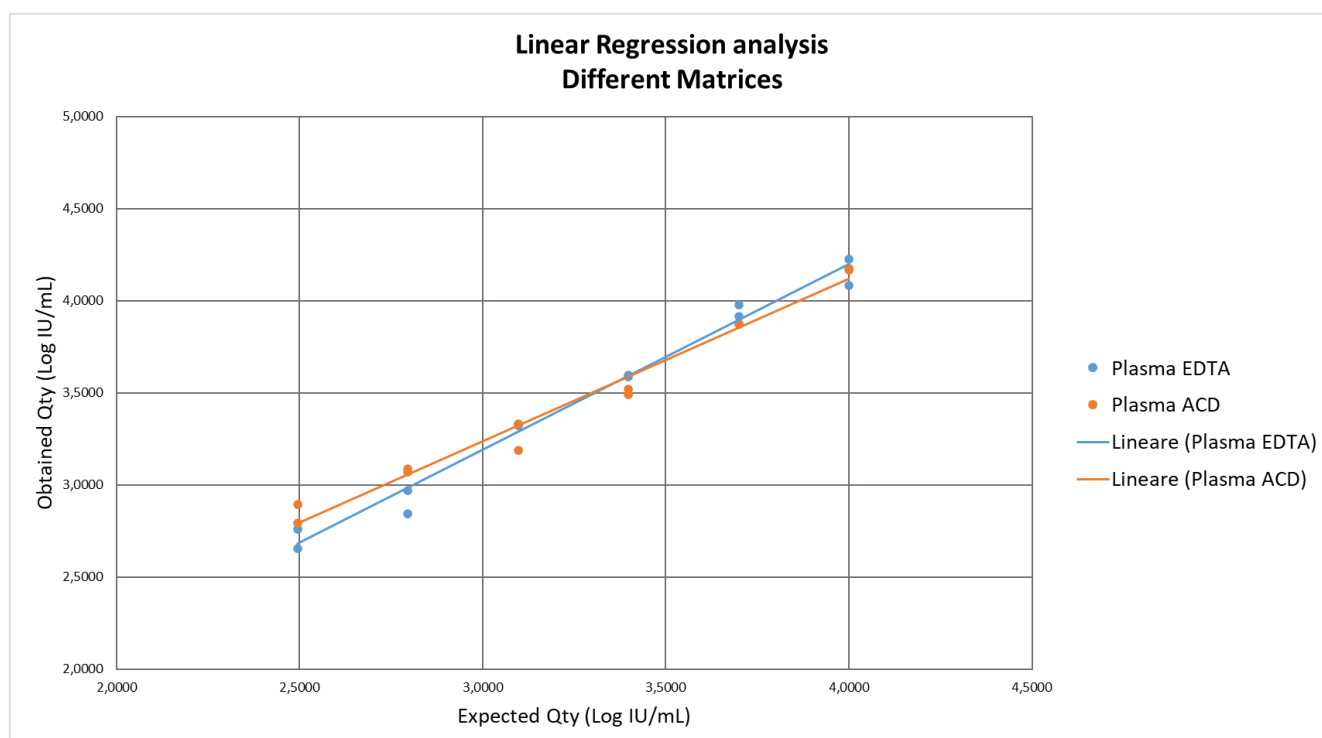


Fig. 3

A linearidade do ensaio foi confirmada para o plasma em EDTA e plasma em ACD, fornecendo resultados quantitativos dentro do intervalo de $\pm 0,5$ Log IU/mL e um R² de 0,984 e 0,980, respectivamente.

O intervalo de medição linear determinado para o ELITe InGenius e ELITe BeGenius também é válido para o MyGenius PRO.

12.4 Incerteza da curva de standard

O valor da incerteza da curva de standard foi calculado combinando os erros aleatórios (DP) das quantificações de todos os níveis e multiplicando o fator de cobertura $k = 2$ (incerteza combinada alargada) e é igual a 0,1348 Log cópias / reação.

Table 23

Níveis da curva de standard	Teórico Log c/rxn	SD	Incerteza combinada alargada
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 Inclusividade: Eficiência de detecção e eficiência de quantificação em diferentes genótipos

A inclusividade do ensaio, como eficiência de detecção de diferentes genótipos de HIV1 foi avaliada por análise in silico das sequências disponíveis nas bases de dados de nucleótidos. A análise revelou a conservação da sequência e a ausência de mutações significativas. Assim, espera-se uma detecção eficiente para as diferentes estirpes ou isolados.

A inclusividade do ensaio foi verificada testando dois painéis de materiais de referência do HIV (OMS e Erlangen) a 3x LdD.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 24

1.ª Painel de referência internacional da OMS para CRF HIV-1			
Subtipo/Grupo	Estirpe	Pos. / Rep.	Resultado
Grupo O	BCF01	3 / 3	HIV1 detetado
CRF11 GJ	MP1307	3 / 3	HIV1 detetado
CRF02-AG	P1261	3 / 3	HIV1 detetado
CRF01-AE	CM244	3 / 3	HIV1 detetado
CRF01 A,G,J,U	96CM1849	3 / 3	HIV1 detetado
CRF BG 24	X2456	3 / 3	HIV1 detetado
Subtipo J	SE9173	3 / 3	HIV1 detetado
Subtipo C	X1936	3 / 3	HIV1 detetado
Subtipo G	P962	3 / 3	HIV1 detetado
CRF ADG	24203	3 / 3	HIV1 detetado

Table 25

Painel do subtipo HIV-1 Erlangen			
Identificação da amostra	Estirpe	Pos. / Rep.	Resultado
HIV1 A1	92UG029	3/3	HIV1 detetado
HIV1 A2	00KE_KER2018	3/3	HIV1 detetado
HIV1 B1	92TH026	3/3	HIV1 detetado
HIV1 B2	90TH_BK132	3/3	HIV1 detetado
HIV1 C1	92BR025	3/3	HIV1 detetado
HIV1 C2	99ET_14	3/3	HIV1 detetado
HIV1 D1	92UG021	3/3	HIV1 detetado
HIV1 D2	92UG035	3/3	HIV1 detetado
HIV1 D3	92UG024	3/3	HIV1 detetado
HIV1 E1	92TH022	3/3	HIV1 detetado
HIV1 F1	93BR029	3/3	HIV1 detetado
HIV1 F2	93BR020	3/3	HIV1 detetado
HIV1 G	RU570	3/3	HIV1 detetado
HIV1 H	VI525	3/3	HIV1 detetado
HIV1 GH	VI557	3/3	HIV1 detetado
HIV1 AG1	01CM.0005BBY	3/3	HIV1 detetado
HIV1 AG2	01CM.0008BBY	3/3	HIV1 detetado

Table 25 (continued)

Painel do subtipo HIV-1 Erlangen			
Identificação da amostra	Estirpe	Pos. / Rep.	Resultado
HIV1 N	YBF30	3/3	HIV1 detetado
HIV1 O1	MVP5180	3/3	HIV1 detetado
HIV1 O2	CA-9	3/3	HIV1 detetado

Todas as amostras foram corretamente detetadas como positivas e quantificadas dentro de $\pm 0,5$ Log pelo HIV1 ELITe MGB® Kit.

12.6 Marcadores potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

A potencial reatividade cruzada de organismos não pretendidos que podem ser encontrados em amostras clínicas foi avaliada através de análise in silico. A análise não demonstrou qualquer homologia significativa com outros organismos não intencionais (vírus, bactérias, protozoários e fungos), exceto no caso do HIV2, o organismo mais relacionado com o HIV1, que tem uma homologia próxima dos 80%. Por conseguinte, é esperada uma reatividade cruzada.

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 26

Identificação da amostra	Pos./Rep. HIV1	Resultado
HIV2	3 / 3	Reatividade cruzada
HTLV1	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HTLV2	0 / 3	Sem reatividade cruzada
CMV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
EBV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HAV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HBV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HCV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HEV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HSV1	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HSV2	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HHV6	0 / 3	Sem reatividade cruzada
VZV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Flu A	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Flu B	0 / 3	Sem reatividade cruzada
RSV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
ADV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
WNV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
DV3	0 / 3	Sem reatividade cruzada

Table 26 (continued)

Identificação da amostra	Pos./Rep. HIV1	Resultado
EV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
PVB19	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Staphylococcus aureus	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Candida albicans	0 / 3	Sem reatividade cruzada

Todos os marcadores potencialmente interferentes testados não revelaram qualquer reatividade cruzada para a amplificação do alvo de HIV1 usando o HIV1 ELITe MGB Kit, à exceção do HIV2 que pode dar resultados positivos com uma quantificação 2.000 vezes menor que o título de HIV2 teórico.

12.7 Marcadores potencialmente interferentes: Inibição

A inibição potencial dos organismos não pretendidos que podem ser encontrados em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de organismos não pretendidos de diferentes fornecedores (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix).

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 27

Identificação da amostra	Pos./Rep. HIV1	Resultado
HIV2	3 / 3	Sem interferência
HTLV1	3 / 3	Sem interferência
HTLV2	3 / 3	Sem interferência
CMV	3 / 3	Sem interferência
EBV	3 / 3	Sem interferência
HAV	3 / 3	Sem interferência
HBV	3 / 3	Sem interferência
HCV	3 / 3	Sem interferência
HEV	3 / 3	Sem interferência
HSV1	3 / 3	Sem interferência
HSV2	3 / 3	Sem interferência
HHV6	3 / 3	Sem interferência
VZV	3 / 3	Sem interferência
Flu A	3 / 3	Sem interferência
Flu B	3 / 3	Sem interferência
RSV	3 / 3	Sem interferência
ADV	3 / 3	Sem interferência
WNV	3 / 3	Sem interferência
DV3	3 / 3	Sem interferência
EV	3 / 3	Sem interferência
PVB19	3 / 3	Sem interferência

Table 27 (continued)

Identificação da amostra	Pos./Rep. HIV1	Resultado
Staphylococcus aureus	3 / 3	Sem interferência
Candida albicans	3 / 3	Sem interferência

Todos os organismos potencialmente interferentes testados não revelaram qualquer inibição da detecção e quantificação do alvo HIV1 utilizando o HIV1 ELITe MGB Kit.

NOTE

Embora o HIV2 não iniba a detecção de HIV1, pode causar a sobrequantificação de HIV1 em amostras de indivíduos com dupla infecção devido à reatividade cruzada com HIV2.

12.8 Substâncias potencialmente interferentes: Inibição

A inibição potencial de substâncias interferentes (endógenas e exógenas) que pode ser encontrada em amostras clínicas foi avaliada para o ensaio através da análise de um painel de substâncias a concentrações relevantes em amostras de plasma positivas para os alvos.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 28

Amostra	Pos./Rep. HIV1	Resultado
EDTA	3 / 3	Sem interferência
Heparina	0 / 3	Interferência
Sangue altamente hemolítico	3 / 3	Sem interferência
Plasma lipêmico	3 / 3	Sem interferência
Plasma icterico	3 / 3	Sem interferência
Ganciclovir	3 / 3	Sem interferência
Azitromicina	3 / 3	Sem interferência
Abacavir	3 / 3	Sem interferência
Emtricitabine	3 / 3	Sem interferência
Lamivudina	3 / 3	Sem interferência
Tenofovir	3 / 3	Sem interferência
Doravirine	3 / 3	Sem interferência
Efavirenz	3 / 3	Sem interferência
Rilpivirine	3 / 3	Sem interferência
Atazanavir	3 / 3	Sem interferência
Darunavir	3 / 3	Sem interferência
Bictegravir	3 / 3	Sem interferência
Elvitegravir	3 / 3	Sem interferência
Maraviroc	3 / 3	Sem interferência

A maioria das substâncias testadas não interfere com a amplificação de HIV1 ou do Internal Control.

A heparina foi confirmada como sendo capaz de inibir a amplificação do HIV1; no entanto, graças ao valor-limite de Ct do Internal Control (IC Ct < 33), os resultados das amostras são "inválidos" em vez de "falsos negativos".

12.9 Contaminação cruzada

A possível contaminação cruzada durante a análise foi avaliada através da análise de 30 amostras de plasma negativas para o ARN do HIV1, alternadas com 30 amostras de plasma reforçadas com material de referência certificado para HIV1 (Zeptomatrix) em título alto.

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Table 29

Amostras	N	Negativo	Positivo
Plasma em ACD reforçado a 1×10^6 HIV1 IU/mL	30	0	30
Plasma em ACD negativo para HIV1	30	30	0

Neste teste com o HIV1 ELITE MGB Kit, a contaminação cruzada não foi detetada dentro das sessões nem entre sessões.

12.10 Taxa de falha geral do sistema

A taxa de falha de todo o sistema para o ensaio foi avaliada no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius através do teste de um painel de amostras reforçadas com material de referência certificado (PEI) a uma concentração de 3 x LdD (cerca de 180 IU/mL).

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

Table 30 ELITE InGenius - Taxa de falha geral do sistema

Amostras	N	Teórico IU/mL	Negativo	Positivo	Taxa de falha de todo o sistema
Plasma em EDTA reforçado com HIV1	100	180	0	100	0%
Plasma em ACD reforçado com HIV1	30	180	0	30	0%

Table 31 ELITE BeGenius - Taxa de falha geral do sistema

Amostras	N	Teórico IU/mL	Negativo	Positivo	Taxa de falha de todo o sistema
Plasma em EDTA reforçado com HIV1	100	180	0	100	0%

No teste com o HIV1 ELITE MGB Kit, nenhuma das amostras HIV1 positivas testadas deu resultados falsos negativos. Neste teste, a taxa de falha geral do sistema foi igual a 0%.

12.11 Repetibilidade

A repetibilidade intra-sessão e inter-sessão do ensaio foi avaliada no ELITE InGenius e no ELITE BeGenius através da análise de um painel de amostras de plasma, incluindo uma amostra negativa e duas amostras enriquecidas com material de referência certificado de HIV1 (4th WHO International Standard, NIBSC).

Um exemplo dos resultados da repetibilidade intra-sessão (em um dia) são mostrados nas tabelas seguintes.

Table 32 Repetibilidade intra-sessão do ELITE InGenius (dia 1)

Amostra	HIV1				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	8	Indet.	-	-	100%
3x LdD	8	35,02	0,40	1,14	100%
10x LdD	8	33,67	0,46	1,36	100%

Table 33 Repetibilidade intra-sessão do ELITE BeGenius (dia 1)

Amostra	HIV1				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	8	Indet.	-	-	100%
3x LdD	8	35,90	0,72	2,02	100%
10x LdD	8	33,94	0,62	1,83	100%

Um exemplo dos resultados da repetibilidade inter-sessão (em dois dias) são mostrados nas tabelas seguintes.

Table 34 ELITE InGenius Capacidade de repetição inter-sessão (Dia1 + Dia2)

Amostra	HIV1				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	16	Indet.	-	-	100%
3x LdD	16	35,09	0,27	0,78	100%
10x LdD	16	33,68	0,36	1,07	100%

Table 35 ELITE BeGenius Capacidade de repetição inter-sessão (Dia1 + Dia2)

Amostra	HIV1				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	16	Indet.	-	-	100%
3x LdD	16	35,99	0,59	1,64	100%
10x LdD	16	34,11	0,51	1,49	100%

No teste de reprodutibilidade, o HIV1 ELITE MGB Kit detetou todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

12.12 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade interlocal do ensaio foi avaliada no ELITE InGenius através da análise de um painel de amostras de plasma negativas ou reforçadas com HIV1 (4th WHO International Standard, NIBSC).

Um resumo de reprodutibilidade interlocal (em três locais) é mostrado nas tabelas seguintes:

Table 36 ELITe InGenius Reprodutibilidade entre locais

Amostra	HIV1				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	24	Indet.	-	-	100%
3x LdD	24	35,01	0,66	1,88	100%
10x LdD	24	33,34	0,23	0,68	100%

No teste de reprodutibilidade entre locais, o HIV1 ELITe MGB Kit detetou o alvo e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV inferior a 5%.

A reprodutibilidade do ensaio foi avaliada no ELITe BeGenius e no ELITe InGenius através da análise de um painel de amostras de plasma negativas ou reforçadas com HIV1 (4th WHO International Standard, NIBSC).

Um resumo de reprodutibilidade inter-instrumento (em três instrumentos) é mostrado nas tabelas seguintes:

Table 37 ELITe InGenius Reprodutibilidade inter-instrumento

Amostra	HIV1				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	24	Indet.	-	-	100%
3x LdD	24	35,17	0,47	1,34	100%
10x LdD	24	33,76	0,30	0,88	100%

Table 38 ELITe BeGenius Reprodutibilidade inter-instrumento

Amostra	HIV1				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	24	Indet.	-	-	100%
3 x LdD	24	35,86	0,59	1,65	100%
10 x LdD	24	34,12	0,41	1,19	100%

Um resumo de reprodutibilidade interlote (em três lotes) é mostrado nas tabelas seguintes:

Table 39 ELITe InGenius Capacidade de reprodução inter-lote

Amostra	HIV1				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	48	Indet.	-	-	100%
3x LdD	48	35,14	0,63	1,81	100%
10x LdD	48	33,64	0,41	1,22	100%

Table 40 ELITe BeGenius Capacidade de reprodução inter-lote

Amostra	HIV1				
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância
Negativo	48	Indet.	-	-	100%
3 x LdD	48	35,79	0,67	1,87	100%
10 x LdD	48	34,06	0,33	0,98	100%

No teste de reprodutibilidade inter-instrumento e inter-lote, o HIV1 ELITe MGB Kit detetou corretamente todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como % CV inferior a 5%.

12.13 Fator de conversão para unidades internacionais

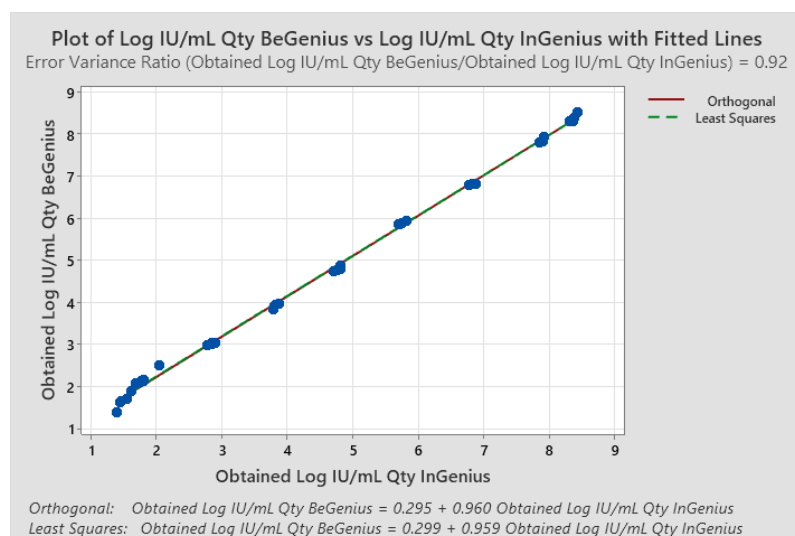
O fator de conversão para relatar os resultados quantitativos em unidades internacionais/mL a partir de cópias/mL, foi verificado usando material de referência calibrado e certificado "4th WHO HIV1 International Standard" (NIBSC).

O fator de conversão foi determinado como **2,3 IU/cópia**.

Como a equivalência entre o plasma em EDTA e o plasma em ACD foi demonstrada anteriormente, o fator de conversão pode ser aplicado às três matrizes.

O fator de conversão para relatar os resultados quantitativos em Unidades internacionais/mL a partir de cópias/mL, foi verificado nos instrumentos **ELITe BeGenius** e **ELITe InGenius** usando material de referência calibrado e certificado (4th WHO International Standard, NIBSC).

Os resultados obtidos foram analisados por regressão ortogonal e linear para calcular a correlação.

**Fig. 4**

A análise de regressão ortogonal gerou uma interceção igual a 0,066 (95% CI: 0,194; 0,061) e um declive igual a 0,998 (95% CI: 0,953; 1,042). A análise de regressão linear gerou um R² de 0,991. ²of 0.991.

O fator de conversão para unidades internacionais calculado para ELITe InGenius também é válido para MyGenius PRO.

12.14 MyGenius PRO: correlação do método

A análise de correlação dos diferentes métodos foi avaliada no MyGenius PRO através da análise de amostras HIV1 de doentes cuja carga viral se encontrava dentro do intervalo de medição dos métodos de referência (ELITE InGenius). Os resultados obtidos com o MyGenius PRO e o método de referência (ELITE InGenius) foram analisados por regressão ortogonal e linear.

O estudo de correlação foi efetuado num local em 103 amostras clínicas positivas de plasma em EDTA, certificadas como positivas para o ARN do HIV1 ou reforçadas com material de referência, utilizando o ELITE InGenius como comparador.

Os resultados estão resumidos na figura seguinte

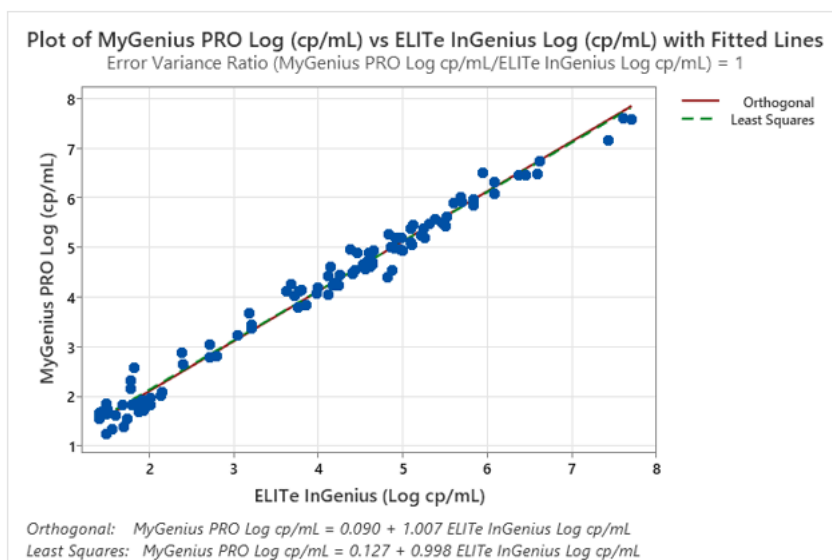


Fig. 5

A análise de regressão ortogonal gerou uma interceção equivalente a 0,090 (95% CI:-0,0243; 0,2045) e um declive igual a 1,007 (95% IC: 0,9801 – 1,0333). A análise de regressão linear gerou um R² de 0,982.² of 0.982.

Os resultados da correlação do método também são válidos para a matriz de plasma em ACD.

12.15 Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

A especificidade de diagnóstico do ensaio, avaliada pela concordância da percentagem negativa, foi avaliada em três locais diferentes no **ELITE InGenius** através da análise de amostras clínicas negativas para o ARN de HIV1 testadas por métodos de referência de diagnóstico molecular com marcação CE IVD.

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

Dado que o MyGenius PRO revelou desempenhos analíticos equivalentes ao ELITE InGenius, os desempenhos de diagnóstico do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, a especificidade do diagnóstico do ensaio obtida em associação com o ELITE InGenius também se aplica ao MyGenius PRO.

Os resultados do estudo de especificidade de diagnóstico, após análise discrepante, estão resumidos na tabela seguinte, tanto diferenciados pelo método de referência (“cobas® HIV-1 para utilização no sistema 4800” e “cobas® HIV-1 para utilização no sistema 6800”, Roche Diagnostics) como unidos, uma vez que têm desempenhos equivalentes.

Table 41

Amostras de plasma em EDTA negativas para o ARN do HIV1	N	Positivo	Negativo	Especificidade do diagnóstico
Referência: cobas HIV-1 para utilização no sistema 6800	90	0	90	100%
Referência: cobas HIV-1 para utilização no sistema 4800	159	3	156	98,1%
Resultados unidos	249	3	246	98,8%

O valor-limite de Ct do IC para plasma em EDTA e plasma em ACD foi definido para 35 quando testadas com o ELITE InGenius, o ELITE BeGenius e o MyGenius PRO.

12.16 Sensibilidade de diagnóstico: correlação do método

A sensibilidade de diagnóstico do ensaio, avaliada pela análise de correlação de diferentes métodos, foi avaliada em três locais diferentes no **ELITE InGenius** através da análise de amostras clínicas positivas para ARN do HIV1 de pacientes submetidos a terapia antivírica cuja carga viral se encontrava dentro do intervalo de medição do HIV1 ELITE MBG Kit e dos métodos de referência de diagnóstico molecular com marcação CE IVD. Os resultados obtidos com o HIV1 ELITE MBG Kit e o método de referência foram analisados por regressão ortogonal e linear.

O estudo de correlação foi realizado num local em 87 amostras clínicas positivas para ARN do HIV1 de plasma colhido em EDTA usando o "cobas® HIV-1 para utilização no sistema 6800" como comparador. Os resultados estão resumidos na figura seguinte.

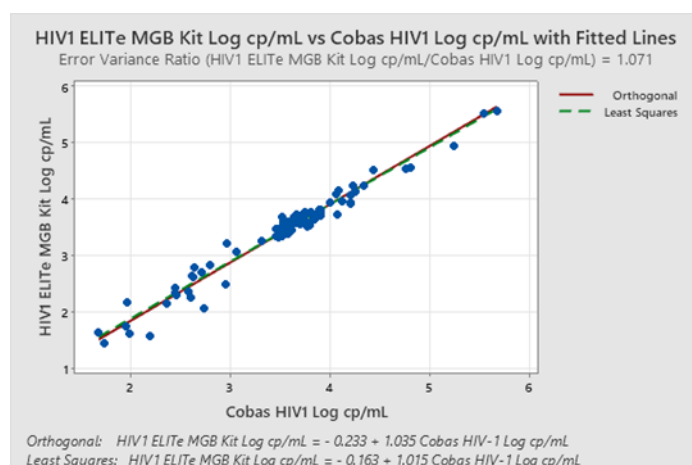


Fig. 6

Neste teste, a análise da regressão ortogonal gerou um declive igual a 1,035 (95% IC: 0,991; 1,078) e uma interceção igual a -0,233 (95% CI: -0,390 – -0,075).

O estudo de correlação foi realizado noutros dois locais em 150 amostras clínicas positivas para ARN do HIV1 de plasma colhido em EDTA usando o "cobas® HIV-1 para utilização no sistema 4800" como comparador. Os resultados estão resumidos na figura seguinte.

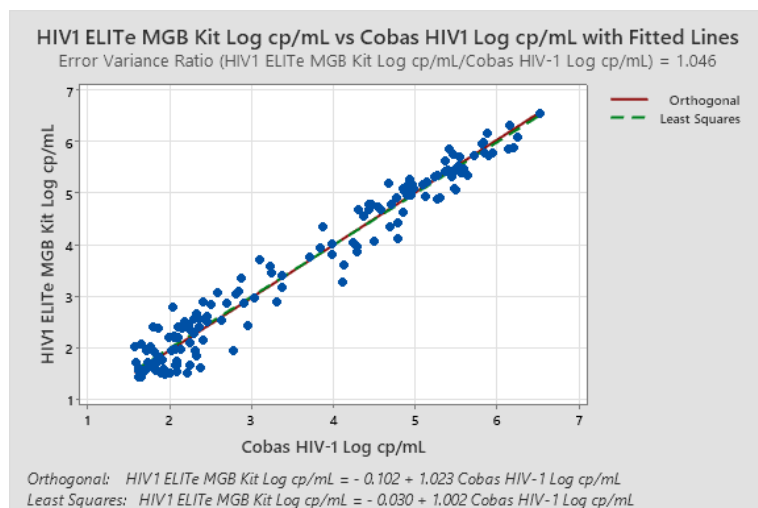


Fig. 7

Neste teste, a análise da regressão ortogonal gerou um declive igual a 1,023 (95% IC: 0,989; 1,056) e uma interceção igual a -0,102 (95% CI: -0,229 – 0,026).

Como os dois métodos de referência (“cobas® HIV-1 para utilização no sistema 4800” e “cobas® HIV-1 para utilização no sistema 6800”, Roche Diagnostics) têm desempenhos equivalentes, o estudo de correlação também foi realizado em resultados unidos obtidos em três locais diferentes. Os resultados estão resumidos na figura seguinte.

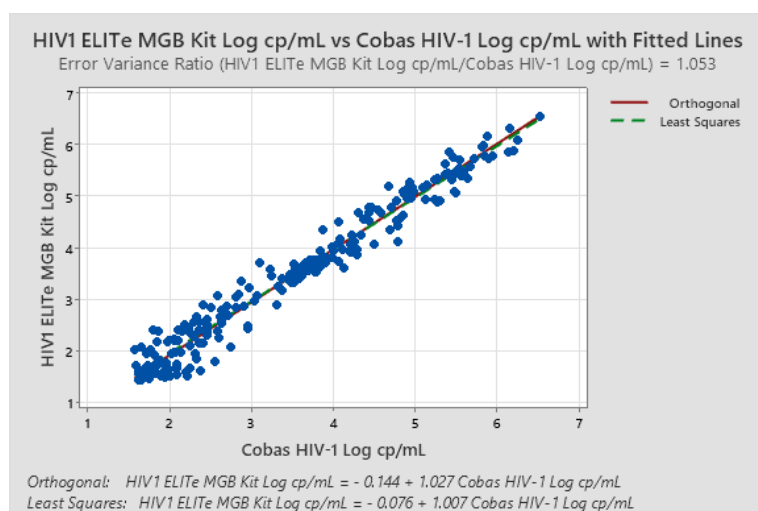


Fig. 8

Neste teste, a análise da regressão ortogonal gerou um declive igual a 1,027 (95% IC: 1,001; 1,052) e uma interceção igual a -0,144 (95% CI: -0,241 – -0,047).

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

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

NOTE

Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matrizes e os instrumentos estão registrados no Ficheiro técnico do produto para o "HIV1 ELITe MGB Kit", FTP 600ING.

13 REFERÊNCIAS

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

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

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

Relatório público da OMS sobre a pré-qualificação de diagnósticos in vitro (Relatório público da OMS sobre PQ), número PQDx 0365-118-00, 10/2020, versão 20.

<https://ltd.aruplab.com> (número de teste 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 LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Utilize este produto apenas com as seguintes amostras clínicas: Plasma colhido em EDTA ou ACD.

O plasma colhido em EDTA ou em ACD deve ser obtido a partir de sangue total armazenado à temperatura ambiente ou +2 / +8 °C durante um máximo de 24 horas.

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

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

Este produto não se destina a ser utilizado para rastrear ou detetar a presença ou a exposição a agentes transmissíveis no sangue, componentes sanguíneos, células, tecidos, órgãos ou quaisquer dos seus derivados, a fim de avaliar a sua adequação para transfusão, transplante ou administração de células.

O produto não se destina a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção pelo HIV.

Este produto demonstra reatividade cruzada com HIV2 que pode dar origem a resultados positivos com uma quantificação 2000 vezes mais baixa que o título HIV2 teórico. Não obstante, tendo em conta a utilização prevista do produto, a epidemiologia HIV2 e a implementação de algoritmos de diagnóstico claros (por ex., CDC) destinados a distinguir a infeção pelo HIV1 do HIV2, a reatividade cruzada de HIV2 não representa um problema real. No entanto, o HIV1 ELITe MGB Kit não é ideal para auxiliar na gestão de indivíduos duplamente infetados pelo HIV1 e HIV2. Nesse caso, o HIV2 não inibe a deteção de HIV1, pode causar a sobrequantificação de HIV1 devido à reatividade cruzada com HIV2.

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

Devido à sua elevada sensibilidade analítica, o método de PCR em tempo real usado neste produto é sensível a contaminação a partir de amostras clínicas positivas, dos controlos positivos e dos produtos de PCR. A contaminação cruzada causa resultados falsos positivos. O formato do produto foi concebido para limitar a contaminação cruzada. No entanto, as contaminações cruzadas podem ser evitadas simplesmente através de boas práticas laboratoriais e do cumprimento destas instruções de utilização.

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

Este produto requer o uso de equipamento de proteção individual que seja adequado para o processamento de amostras biológicas potencialmente infecciosas e de preparações químicas classificadas como perigosas, para evitar acidentes com consequências potencialmente graves para o utilizador e outras pessoas.

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

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

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

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

Um resultado negativo obtido com este produto indica que o ARN do alvo não foi detetado no ARN extraído da amostra; no entanto, não pode negligenciar-se o facto de o ARN do alvo ter um título mais baixo que o limite de deteção do produto (ver [12 CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO COM O ELITE InGenius, ELITE BeGenius e MyGenius PRO page 32](#)). Neste caso, o resultado podia ser um falso negativo.

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

Possíveis polimorfismos, inserções ou deleções na região do ARN do alvo abrangida pelos primers do produto e pelas sondas podem prejudicar a deteção e quantificação do ARN alvo.

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, os resultados obtidos com este produto têm de ser interpretados em combinação com todas as observações clínicas e resultados laboratoriais relevantes.

Tal como acontece com qualquer outro dispositivo médico de diagnóstico, existe um risco residual de obter resultados inválidos ou errados com este produto. Este risco residual não pode ser eliminado ou ainda mais reduzido. Em alguns casos, este risco residual pode contribuir para decisões erradas com potenciais efeitos perigosos para o paciente. No entanto, este risco residual associado à utilização prevista do produto foi ponderado em relação aos potenciais benefícios para o paciente e foi considerado aceitável.

15 RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

ELITE InGenius e ELITE BeGenius

Table 42

Reação do Q-PCR Standard, curva standard ou reação do Controlo Positivo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa, dos Q-PCR Standards e do Positive Control. Verifique os volumes da mistura de reação completa, dos Q-PCR Standards e do Positive Control.
Erro na preparação da mistura de reação completa.	Verifique os volumes dos reagentes usados durante a preparação da mistura de reação completa.

Table 42 (continued)

Reação do Q-PCR Standard, curva standard ou reação do Controlo Positivo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Degradação da mistura de reação completa ou dos respetivos componentes.	Não utilize a mistura de reação completa durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos. Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
Degradação dos Q-PCR Standards ou do Positive Control.	Não use o Q-PCR Standard para mais de 2 sessões independentes (2 horas cada na área de extração ou na Cooler Unit). Não use o Positive Control para mais de 4 sessões independentes (3 horas cada na área de extração ou na Cooler Unit). Use novas alíquotas dos Q-PCR Standards ou do Controlo positivo (Positive Control).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 43

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

Table 44

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique a posição da mistura de reação completa, do controlo interno e da amostra. Verifique os volumes da mistura de reação completa, do controlo interno e da amostra.
Erro na preparação da mistura de reação completa.	Verifique os volumes dos reagentes usados durante a preparação da mistura de reação completa.

Table 44 (continued)

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Degradação da mistura de reação completa ou dos seus componentes.	Não utilize a mistura de reação completa durante mais de 3 sessões consecutivas (7 horas no bloco de refrigeração da Inventory Area (área dos reagentes) ou na Cooler Unit). Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 °C durante mais de 10 minutos. Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
Degradação do modelo do Controlo Interno.	Utilize uma nova alíquota de Controlo Interno.
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	Repita a amplificação como está ou com uma diluição de 1:2 em água de grau para biologia molecular de amostra eluída numa sessão "PCR only" (Apenas PCR). Repita a extração com uma diluição 1:2 em água de grau de biologia molecular da amostra numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 45

Curva de dissociação anómala	
Causas possíveis	Soluções
Ausência de um pico definido. Pico definido mas Tm diferente do de outras amostras e dos Standards e Positive Control.	Verifique a presença de Ct do alvo inferior a 30. A elevada quantidade de produto de amplificação no final da reação pode interferir com a análise da curva de fusão. Repita a amplificação da amostra para confirmar a presença do alvo com uma possível mutação. O alvo da amostra deve ser sequenciado para confirmar a mutação.

Table 46

Erro no cálculo de Ct	
Causas possíveis	Soluções
Concentração demasiado alta do alvo na amostra ou amostra com sinal de fluorescência anómalo.	Se for observada uma amplificação significativa no gráfico de PCR: - selecione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado como sendo positivo. Se não for observada uma amplificação significativa no gráfico de PCR, selecione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado como sendo negativo, ou deixe-o como inválido. Se for necessário um valor Ct: - repita a amplificação de amostra eluída com uma diluição 1:10 em água de grau de biologia molecular numa sessão "PCR Only" (apenas PCR). - repita a extração da amostra com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

Table 47

Elevada taxa anómala de resultados positivos na mesma sessão (reações com valores de Ct recentes semelhantes)	
Causas possíveis	Soluções
Contaminação entre amostras durante os passos pré-analíticos.	Limpe a micropipeta com uma solução de hipoclorito de sódio (lixívia) a 3% nova ou detergente de ADN/ARN após usar a pipeta em cada amostra. Não use pipetas Pasteur. As pipetas devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. Introduza as amostras nas últimas posições dos instrumentos, tal como indicado nas GUI. Siga a sequência de carregamento indicada pelo software.
Contaminação pelo ambiente laboratorial.	Limpe todas as superfícies em contacto com o operador e as amostras (incluindo as pipetas) com uma solução de hipoclorito de sódio a 3% (lixívia) nova ou produto de limpeza de ADN/ARN. Realize um ciclo de descontaminação U.V. Utilize um novo tubo de Q-PCR Mix e/ou Controlo Interno

MyGenius PRO**Table 48**

Reação do Q-PCR Standard, curva standard ou reação do Controlo Positivo inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique os volumes da mistura de reação completa, dos Q-PCR Standards e do Positive Control. É importante que os tubos utilizados no MyGenius PRO não tenham sido utilizados anteriormente por outras plataformas ou para definir sessões em plataformas abertas, pois o instrumento lê a etiqueta e atribui automaticamente o número máximo de réplicas que podem ser executadas se esse tubo nunca tiver sido carregado no MyGenius PRO. Portanto, se for utilizado um tubo que não seja novo, o volume poderá não ser suficiente.
Erro na preparação da mistura de reação completa.	Verifique os volumes dos reagentes usados durante a preparação da mistura de reação completa.
Degradação da mistura de reação completa ou dos seus componentes.	Não use a mistura de reação completa durante mais de 7 horas no carrossel. Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 ° C durante mais de 10 minutos. Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
Degradação dos Q-PCR Standards ou do Positive Control.	Não use o Q-PCR Standard durante mais de 2 sessões independentes (2 horas cada no carrocél). Não use o Positive Control para mais de 4 sessões independentes (3 horas cada no carrocél). Use tubos novos de Q-PCR Standards ou Positive Control.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 49

Reação de Negative Control inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique os volumes da mistura de reação completa e do Negative Control. É importante que os tubos utilizados no MyGenius PRO não tenham sido utilizados anteriormente por outras plataformas ou para definir sessões em plataformas abertas, pois o instrumento lê a etiqueta e atribui automaticamente o número máximo de réplicas que podem ser executadas se esse tubo nunca tiver sido carregado no MyGenius PRO. Portanto, se for utilizado um tubo que não seja novo, o volume poderá não ser suficiente.
Contaminação do Negative Control.	Não use o Negative Control para mais do que 1 sessão e durante mais de 8 horas. Utilize um tubo novo de Negative Control.
Contaminação da mistura de reação completa ou para os respetivos componentes.	Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
Contaminação da área de extração, dos Racks, do Inventory Block (Gestor do reagente) ou da Cooler Unit.	Limpe as superfícies com detergentes aquosos, lave as batas de laboratório, substitua os tubos e as pontas utilizadas.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 50

Reação da amostra inválida	
Causas possíveis	Soluções
Erro na configuração do instrumento.	Verifique os volumes da mistura de reação completa, do Internal Control e das amostras. É importante que os tubos utilizados no MyGenius PRO não tenham sido utilizados anteriormente por outras plataformas ou para definir sessões em plataformas abertas, pois o instrumento lê a etiqueta e atribui automaticamente o número máximo de réplicas que podem ser executadas se esse tubo nunca tiver sido carregado no MyGenius PRO. Portanto, se for utilizado um tubo que não seja novo, o volume poderá não ser suficiente.
Degradação da mistura de reação completa ou dos seus componentes.	Não use a mistura de reação completa durante mais de 7 horas no carrossel. Não deixe a PCR Mix à temperatura ambiente durante mais do que 30 minutos. Não deixe a RT EnzymeMix a temperaturas superiores a -20 ° C durante mais de 10 minutos. Prepare novamente a mistura de reação completa. Utilize uma nova alíquota de componentes.
Degradação do Controlo Interno.	Não use o Negative Control durante mais de 8 horas. Utilize um tubo novo de Internal Control.
Inibição devido a substâncias interferentes na amostra.	Repita a extração e amplificação da amostra. Repita a extração e amplificação da amostra com uma diluição 1:2 em água de qualidade para biologia molecular.
Concentração demasiado alta do alvo na amostra ou amostra com sinal de fluorescência anómalo	Se for necessário um valor de Ct, repita a extração e amplificação da amostra com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular.
Erro do instrumento.	Contacte a Assistência técnica do ELITechGroup.

Table 51

Curva de dissociação anómala	
Causas possíveis	Soluções
Ausência de um pico definido. Pico definido mas T _m diferente do de outras amostras e dos Standards e Positive Control.	Verifique a presença de Ct do alvo inferior a 30. A elevada quantidade de produto de amplificação no final da reação pode interferir com a análise da curva de fusão. Repita a extração e amplificação da amostra para confirmar a presença do alvo com uma possível mutação. O alvo da amostra deve ser sequenciado para confirmar a mutação.

Table 52

Erro no cálculo de Ct	
Causas possíveis	Soluções
Concentração demasiado alta do alvo na amostra ou amostra com sinal de fluorescência anómalo.	Se uma amplificação significativa aparecer no traçado da PCR, o resultado deve ser considerado positivo. Se nenhuma amplificação aparecer no traçado da PCR, o resultado deve ser considerado negativo ou inválido. Se for necessário um valor de Ct, repita a extração e amplificação da amostra com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular.

Table 53

Elevada taxa anómala de resultados positivos na mesma sessão (reações com valores de Ct recentes semelhantes)	
Causas possíveis	Soluções
Contaminação entre amostras durante os passos pré-analíticos.	Limpe a micropipeta com uma solução de hipoclorito de sódio (lixívia) a 3% nova ou detergente de ADN/ARN após usar a pipeta em cada amostra. Não usar pipetas Pasteur. As pipetas devem ser do tipo de deslocação positiva ou ser usadas com pontas com filtro de aerossóis. Introduza amostras no final do dia.
Contaminação pelo ambiente laboratorial.	Limpe todas as superfícies em contacto com o operador e as amostras (incluindo as pipetas) com uma solução de hipoclorito de sódio a 3% (lixívia) nova ou produto de limpeza de ADN/ARN. Realize um ciclo de descontaminação U.V. Utilize um novo tubo de Q-PCR Mix e/ou Controlo Interno

16 SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Limite máximo da temperatura.



Código de lote.



Prazo de validade (último dia do mês).



Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*.



Cumprimento dos requisitos dos Regulamentos IVDR 2017/746/CE relativo a dispositivos médicos de diagnóstico *in vitro*. Certificação emitida pela TÜV Süd Product Service GmbH, Alemanha.



Identificação única do dispositivo



Contém suficiente para "N" testes.



Consultar as instruções de utilização.



Conteúdo.



Manter afastado da luz solar.



Fabricante.

17 NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES

Qualquer incidente grave ocorrido relacionado com o dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e às autoridades competentes do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente se encontram localizados. Para informar a ELITechGroup S. p. A., fabricante deste dispositivo, utilize o seguinte endereço de e-mail: egspa.vigilance@elitechgroup.com.

Um "Resumo da segurança e desempenho" será disponibilizado ao público através da base de dados europeia para dispositivos médicos (Eudamed) quando este sistema informático estiver operacional. Antes da notificação de total funcionalidade da Eudamed ter sido publicada, o "Resumo da Segurança e Desempenho" foi disponibilizado ao público mediante pedido por e-mail para emd.support@elitechgroup.com, em tempo útil.

18 NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA

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

Os reagentes de deteção ELITe MGB® são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos 7319022, 7348146, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8163910, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529, e os números de patente EP 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 bem como pedidos que estejam atualmente pendentes.

As tecnologias ELITe InGenius®, ELITe BeGenius® e MyGenius PRO® estão cobertas por patentes e pedidos pendentes.

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

Appendix A HIV1 ELiTe MGB® Kit utilizado em associação com as plataformas da série Genius®



CAUTION

Este documento é uma versão simplificada das instruções de utilização oficiais. Este documento está disponível apenas em inglês. Consulte o documento completo antes de utilizar: www.elitech-group.com

Utilização prevista

O produto **HIV1 ELiTe MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio quantitativo de transcrição reversa e PCR em tempo real de ácidos nucleicos para a deteção e a quantificação do ARN do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV1), extraído de amostras clínicas.

O ensaio é validado em associação com os instrumentos **ELiTe InGenius®**, **ELiTe BeGenius®** e **MyGenius PRO®** (nome de registo ELIVERSE®), sistemas automatizado e integrado para a extração, transcrição reversa, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de plasma colhido em EDTA ou em ACD.

O produto está previsto para utilização como auxiliar na gestão de indivíduos infetados por HIV1 que estejam a realizar terapia antiviral.

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

O produto não se destina a ser utilizado para rastrear ou detetar a presença ou a exposição a agentes transmissíveis no sangue, componentes sanguíneos, células, tecidos, órgãos ou quaisquer dos seus derivados, a fim de avaliar a sua adequação para transfusão, transplante ou administração de células. O produto não se destina a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção pelo HIV1.

Sequência amplificada

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
Alvo	Gene da polimerase do HIV1 região da integrase)	FAM	HIV1
Internal Control	MS2	AP525	IC

Matrizes validadas

› Plasma em EDTA	› Plasma em ACD
------------------	-----------------

Conteúdo do 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 tubos de 600 µL 96 reações por kit 5 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo	RT EnzymeMix 2 tubos de 20 µL 96 reações por kit 10 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo	Calibradores prontos a usar: 10^5 , 10^4 , 10^3 , 10^2 1 conjuntos de 4 tubos de 160 µL 2 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo		Ready-to-use PC 2 tubos de 160 µL 8 reações por kit 4 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo	IC pronto a utilizar 8 tubos de 160 µL 96 extrações por kit 6 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo

Prazo de conservação máximo: **18 meses**Temperatura de armazenamento: **-20 °C**

Outros produtos necessários não fornecidos no kit

- › Instrumento ELITE InGenius: INT030
- › Instrumento ELITE BeGenius: INT040

- › Cartucho de extração ELITE InGenius SP 1000: INT033SP1000
- Consumíveis **ELITE InGenius** e **ELITE BeGenius** (ver instruções de utilização do ELITE InGenius e do ELITE BeGenius)

Protocolo do ELITE InGenius e do ELITE BeGenius

› Volume da amostra	600 µL	› Unidade do resultado quantitativo	Unidades internacionais: IU/mL
› Volume de HIV1 CPE	10 µL		Cópias: Cópias/mL
› Volume de eluição total	50 µL	› Frequência dos controlos	15 dias
› Volume de entrada de eluição PCR	20 µL	› Frequência da calibração	60 dias
› Volume PCR Mix completo	20 µL		

Desempenho do ELITE InGenius e do ELITE BeGenius

Matriz	Limite de detecção	Fator de conversão em IU	Sensibilidade de diagnóstico: Correlação do método	Especificidade do diagnóstico
Plasma	60 IU/mL 26 cópias/mL	2,3 IU/cópia	R2 = 0,963 237 amostras quantificadas	98,8% 246 amostras confirmadas/249 amostras testadas
			métodos de referência: “cobas® HIV1 para utilização nos sistemas 4800” e “cobas® HIV1 para utilização nos sistemas 6800”, Roche Diagnostics.	

Preparação da amostra

Este produto destina-se a ser usado no **ELITE InGenius** e no **ELITE BeGenius** com as amostras clínicas validadas relevantes identificadas e manuseadas de acordo com as diretrizes laboratoriais, e colhidas, transportadas e armazenadas sob as condições seguintes:

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte / armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Plasma	EDTA ou ACD	≤ 2 dias	≤ 3 dias	≤ 1 mês	≤ 6 meses

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

Não use plasma hemolítico, uma vez que a hemoglobina inibe a reação de PCR.

Procedimentos ELITE InGenius

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

Antes da análise

1. Ligue o ELITE InGenius. Inicie sessão com o nome de utilizador e a palavra-passe Selecione o modo “Closed” (Fechado)	2. Verifique os calibradores: Q-PCR Standard no menu “Calibration” (Calibração) Verifique os controlos: Positive Control e Negative Control no menu “Controls” (Controlos). Nota: Todos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado	3. Descongele a PCR Mix e os tubos de CPE . Submeta a vórtice suave Centrifugue durante 5 s Mantenha a RT EnzymeMix em gelo
--	---	--

4. Prepare a mistura de reação completa			5. Submeta a vórtice suave Centrifugue durante 5 s. Mantenha mistura de reação completa em gelo. Não exponha à luz direta.
Número de amostras (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	

Procedimento 1 - Execução completa: Extração + PCR

1. Selecione "Perform Run" (Executar) no ecrã tátil	2. Verifique os volumes de extração: Entrada: "1000 μL ", eluição: "50 μL "	3. Leia os códigos de barras das amostras com um leitor de códigos de barras manual ou escreva a identificação da amostra
4. Selecione o protocolo de ensaio de interesse: HIV1 ELITe_PL_600_50	5. Selecione o método "Extract + PCR" (Extrair+PCR) e a posição da amostra: Extraction Tube (Tubo de extração)	6. Carregue a mistura de reação completa no Internal Control e no Inventory Block (Gestor do reagente)
7. Carregue: PCR Cassette, Cartucho de extração, Tubo de eluição, Cassete de pontas, Racks do tubo de extração	8. Feche a porta Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

NOTE

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

Procedimento 2 - Apenas PCR

1 a 4: Siga o procedimento de execução completa descrito acima (selecione os Protocolos de ensaio: HIV1 ELITe_PC e HIV1 ELITe_NC ou HIV1 ELITe_STD ou HIV1 ELITe_PL_600_50)	5. Selecione o método "PCR Only" (Apenas PCR) e defina a posição da amostra "Elution Tube" (Tubo de eluição)	6. Carregue a mistura de reação completa no Inventory Block (Gestor do reagente).
7. Carregue: Rack de PCR Cassette e suporte de tubos de eluição com o ácido nucleico extraído	8. Feche a porta Iniciar a execução	9. Visualize, aprove e guarde os resultados

Procedimentos ELITe BeGenius

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

Antes da análise

1. Ligue o ELITe BeGenius. Inicie sessão com o nome de utilizador e a palavra-passe Selecione o modo “Closed” (Fechado)	2. Verifique os calibradores: Q-PCR Standard no menu “Calibration” (Calibração) Verifique os controlos: Positive Control e Negative Control no menu “Controls” (Controlos) Nota: Todos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado	3. Descongele a PCR Mix e os tubos de CPE Submeta a vórtice suave Centrifugue durante 5 s Mantenha o RT EnzymeMix em gelo
---	--	--

4. Prepare a mistura de reação completa			5. Submeta a vórtice suave Centrifugue durante 5 s Mantenha mistura de reação completa em gelo. Não exponha à luz direta.
Número de amostras (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	

Procedimento 1 - Execução completa: Extração + PCR

1. Selecione “Perform Run” (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução “Extract + PCR” (Extrair +PCR)	2. Insira o rack de amostras com as amostras com código de barras na área de refrigeração. A leitura do código de barras já se encontra ativada	3. Verifique os volumes de extração: Entrada: “600 μL ”, eluato: “50 μL ”
4. Selecione o protocolo de ensaio de interesse: HIV1 ELITe_Be_PL_600_50	5. Imprima as etiquetas para colocar um código de barras nos tubos de eluição vazios. Carregue os tubos no rack de eluição e insira-o na área de refrigeração	6. Carregue a mistura de reação completa e o CPE no “Reagent Rack” (Rack de reagente) e insira-o na área de refrigeração
NOTE Se for realizada uma segunda extração, repita os passos 2 a 4	7. Carregue: Pontas de filtro, rack de extração e rack PCR	8. Feche a porta. Inicie a execução
9. Visualize, aprove e guarde os resultados		

NOTE

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

Procedimento 2 - Apenas PCR

1. Selecione “Perform Run” (Executar) no ecrã tátil e, a seguir, clique no modo de execução “PCR Only” (Apenas PCR)	2. Carregue os tubos com código de barras do ácido nucleico extraído no Elution Rack (rack de eluição) e insira-o na Cooler Unit	3. Para <u>Standards e Controlos</u>: para cada “Position” (Posição) introduza o “Reagent name” (Nome do reagente) e o “S/N” (número de série), o “Lot No.” (número de lote), a “Exp.Date” (data de validade) e o “T/R” (número de reações). Para os <u>eluatos</u>: para cada “Position” (Posição), insira a “Sample ID” (Identificação da amostra), a “Sample matrix” (Matriz da amostra), o “Extraction kit” (Kit de extração) e o “Extracted eluate vol.” (Volume de eluato extraído).
3. Selecione o “Assay protocol” (Protocolo de ensaio) de interesse (HIV1 ELITE_Be_PC e HIV1 ELITE_Be_NC ou HIV1 ELITE_Be_STD ou HIV1 ELITE_Be_PL_600_50)	5. Carregue a PCR Mix no Reagent/Elution Rack (Rack de reagente/eluição). e insira-o na Cooler Unit. Carregue as pontas de filtro e o rack PCR com a “PCR Cassette”	6. Feche a porta. Inicie a execução
7. Visualize, aprove e guarde os resultados		

Appendix B HIV1 ELITe MGB Kit utilizado em associação com MyGeniusPRO



CAUTION

Este documento é uma versão simplificada das instruções de utilização oficiais. Consulte o documento completo antes da utilização: www.elitechgroup.com

Utilização prevista

O produto **HIV1 ELITe MGB® Kit** consiste num dispositivo médico de diagnóstico *in vitro* que se destina a ser usado por profissionais de saúde como um ensaio quantitativo de transcrição reversa e PCR em tempo real de ácidos nucleicos para a deteção e a quantificação do ARN do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV1), extraído de amostras clínicas.

O ensaio é validado em associação com os instrumentos **ELITe InGenius®**, **ELITe BeGenius®** e **MyGenius PRO®** (nome de registo ELIVERSE®), sistemas automatizado e integrado para a extração, transcrição reversa, PCR em tempo real e a interpretação dos resultados, usando amostras humanas de plasma colhido em EDTA ou em ACD.

O produto está previsto para utilização como auxiliar na gestão de indivíduos infetados por HIV1 que estejam a realizar terapia antiviral.

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

O produto não se destina a ser utilizado para rastrear ou detetar a presença ou a exposição a agentes transmissíveis no sangue, componentes sanguíneos, células, tecidos, órgãos ou quaisquer dos seus derivados, a fim de avaliar a sua adequação para transfusão, transplante ou administração de células. O produto não se destina a ser utilizado como teste de diagnóstico para confirmar a presença de infeção pelo HIV1.

Sequência amplificada

Sequência	Gene	Fluoróforo	Canal
Alvo	Gene da polimerase do HIV1 região da integrase)	FAM	HIV1
Internal Control	MS2	AP525	IC

Matrizes validadas

› Plasma em EDTA	› Plasma em ACD
------------------	-----------------

Conteúdo do 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 tubos de 600 µL 96 reações por kit 5 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo	RT EnzymeMix 2 tubos de 20 µL 96 reações por kit 10 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo	Calibradores prontos a usar: 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 conjuntos de 4 tubos de 160 µL 2 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo		Ready-to-use PC 2 tubos de 160 µL 8 reações por kit 4 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo	IC pronto a utilizar 8 tubos de 160 µL 96 extrações por kit 6 ciclos de congelamento-descongelamento por tubo

Prazo de conservação máximo: **18 meses**Temperatura de armazenamento: **-20 °C**

Outros produtos necessários não fornecidos no kit

• MyGenius PRO (EG SpA ref: INT050) • Software MyGenius PRO versão BB-04 (ou posterior)	• Internal Control Maxi (EG SpA, Ref. ICMAXI) • Negative Control (EG SpA, Ref. CTRNEG) • Reagentes e consumíveis MyGenius PRO (ver instruções de utilização do MyGenius PRO)
--	--

Protocolo MyGenius PRO

› Volume da amostra › Volume de IC › Volume de eluição total	600 µL 10 µL 50 µL	› Volume de entrada de PCR eluato › Q—PCR Mix volume › Frequência dos controles › Frequência da calibração	20 µL 20 µL 15 dias 60 dias
--	--------------------------	---	--------------------------------------

Desempenhos MyGenius PRO

Matriz	Limite de detecção	Fator de conversão em IU	Sensibilidade de diagnóstico: Correlação do método	Especificidade do diagnóstico
Plasma	60 IU/mL 26 cópias/mL	2,3 IU/cópia	R2 = 0,963 237 amostras quantificadas	98,8% 246 amostras confirmadas/249 amostras testadas
			métodos de referência: “cobas® HIV1 para utilização nos sistemas 4800” e “cobas® HIV1 para utilização nos sistemas 6800”, Roche Diagnostics.	

Preparação da amostra

Este produto destina-se a ser usado no **MyGenius PRO** com as seguintes amostras clínicas identificadas de acordo com as diretrizes laboratoriais, e colhidas, transportadas e armazenadas sob as condições seguintes.

Amostra	Requisitos de colheita	Condições de transporte / armazenamento			
		+16 / +26 °C (temperatura ambiente)	+2 / +8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Plasma	EDTA ou ACD	≤ 2 dias	≤ 3 dias	≤ 1 mês	≤ 6 meses

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

Não use plasma hemolítico, uma vez que a hemoglobina inibe a reação de PCR.

Procedimentos MyGenius PRO

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

1. Ligue o MyGenius PRO. Inicie sessão no modo STANDBY com o nome de utilizador e a palavra-passe.	2. Carregue todos os consumíveis nas gavetas e esvazie o depósito de resíduos líquidos e as caixas de resíduos sólidos, se necessário. Prima o botão Iniciar para efetuar a Preparação: após a preparação, o instrumento passa para o modo de Funcionamento.	3. Verifique os calibradores: Q-PCR Standard no menu "Calibration" (Calibração). Verifique os controlos: Positive Control e Negative Control no menu "Controls" (Controlos). Nota: Todos devem ter sido executados, aprovados e não ter expirado.
4. Descongele os tubos de PCR Mix e IC MAXI. Submeta a vórtice suave. Centrifugue durante 5 s	5. Carregue os tubos de misturas de PCR no carrossel de reagentes seguindo as indicações da GUI.	6. Carregue o(s) tubo(s) IC MAXI no suporte azul dedicado e coloque-o(s) na área do Auto Sampler.
7a. Se o instrumento estiver ligado ao LIS, insira as amostras na área do Auto Sampler utilizando suportes dedicados, consoante os diâmetros dos tubos utilizados. A extração inicia-se automaticamente. 7b. Se o instrumento não estiver ligado ao LIS, na lista de amostras, prima "Assign test" (Atribuir teste), leia o código de barras das amostras com o leitor de códigos de barras externo, selecione Urine matrix (Matriz de urina) e atribua o protocolo de ensaio "HIV1 ELiTe_My_PL_IU_600_50", "HIV1 ELiTe_My_My_PL_cmL_600_50", insira as amostras na área do Auto Sampler utilizando suportes dedicados, consoante os diâmetros dos tubos utilizados. A extração inicia-se automaticamente.		



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185, 10149 Torino ITÁLIA
Tel. +39-011 976 191
Fax +39-011 936 76 11
E-mail: emd.support@elitechgroup.com
WEB site: www.elitechgroup.com