



NOTICE of CHANGE dated 01/08/2025

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HIV1 ELITe MGB® Kit» Ref. RTK600ING

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

- Replacement of 2mL tube 953-217 and white cap 953-223 with 2mL tube 953-065 related to PCR Mix component tubes.

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

The product batches identified by the following LOT numbers are still placed on the market as per IVDD till to their expiration dates, according to Article 110 of IVDR. If you have those product batches, please contact ELITechGroup staff to request the related previous revision of IFUs.

PRODUCT REF.	Lot Number	Expiry date
RTK600ING	C0724-001	31/10/2025
RTK600ING	C0125-008	31/08/2026



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

Bureaux : Tél. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76

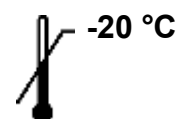
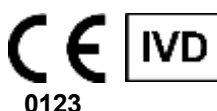
11

E-mail : emd.support@elitechgroup.com

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING



UDI 08033891487126

TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	page 2
PRINCIPE DU TEST	page 2
DESCRIPTION DU PRODUIT	page 2
MATÉRIEL FOURNI	page 4
MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	page 4
AUTRES PRODUITS REQUIS	page 5
AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	page 5
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	page 7
PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius	page 8
PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius	page 14
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	page 19
BIBLIOGRAPHIE	page 29
LIMITES DE LA PROCÉDURE	page 30
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	page 31
LÉGENDE DES SYMBOLES	page 34
AVIS AUX UTILISATEURS	page 34
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	page 35
ANNEXE : GUIDE DE DÉMARRAGE RAPIDE	page A

APPLICATION

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

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

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

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

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

PRINCIPE DU TEST

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

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

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

DESCRIPTION DU PRODUIT

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

- **HIV1 ELITE MGB Mix**

Ce composant fournit les deux sous-composants suivants :

- le **HIV1 PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient :
 - des amorces et des sondes spécifiques pour le **VIH-1**, gène de la polymérase (région de l'intégrase), détecté dans le Canal **HIV1** ; les sondes sont stabilisées par le groupe **MGB®**, désactivées par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquées par le colorant FAM,
 - des amorces et des sondes spécifiques pour le Contrôle interne (**IC**), spécifique d'une région de l'ARN génomique du phage **MS2**, détecté dans le canal **IC** ; la sonde est stabilisée par le groupe **MGB**, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher, et marquée par le colorant AquaPhluor® AP525,
 - un tampon, du chlorure de magnésium, des nucléotides triphosphates et l'enzyme ADN polymérase avec activation thermique (Hot start).
 - Chaque tube contient **600 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **24 tests** (en cas de traitement d'au moins 5 échantillons par session d'analyse).
- le **RT EnzymeMix**, un mélange d'enzymes optimisé et stabilisé pour la transcription inverse. Chaque tube contient **20 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **48 tests** (en cas de traitement d'au moins 5 échantillons par session d'analyse).

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

- **HIV1 ELITE Standard**

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

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

Le **HIV1 ELITE Standard** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **2 sessions d'analyse sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius**, en utilisant 20 µL par réaction.

- **HIV1 - ELITE Positive Control**

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

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

- **HIV1 Internal Control**

Ce composant contient le sous-composant **HIV1 CPE** (Contrôle interne exogène), une solution stabilisée d'ARN génomique du phage MS2. Le **HIV1 CPE** est ajouté aux réactifs d'extraction afin de valider les résultats des échantillons négatifs pour le VIH-1.

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

Le **HIV1 ELITE MGB Kit** peut également être utilisé en association avec des instruments équivalents.

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING**MATÉRIEL FOURNI**

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

Remarque : les concentrations des quatre étalons **Q – PCR Standards** sont exprimées en copies/réaction (10⁵ copies/réaction, 10⁴ copies/réaction, 10³ copies/réaction, 10² copies/réaction).

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.
- Agitateur de type vortex.
- Centrifugeuse de paillasse (~3 000 tr/min).
- Microcentrifugeuse de paillasse (~13 000 tr/min).
- Micropipettes et cônes stériles avec filtre pour les aérosols ou cônes stériles à déplacement positif (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tubes stériles à capuchon vissant de 2,0 mL (Sarstedt, Allemagne, réf. 72.694.005).
- Eau de qualité biologie moléculaire.

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

AUTRES PRODUITS REQUIS

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

Instruments et logiciels	Produits et réactifs
ELITe InGenius (EG SpA, réf. INT030) ELITe InGenius Software version 1.3.0.17 (ou versions ultérieures) HIV1 ELITe_STD , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs HIV1 ELITe_PC , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif HIV1 ELITe_NC , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif HIV1 ELITe_PL_600_50 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma	ELITe InGenius SP 1000 (EG SpA, réf. INT033SP1000) ELITe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, réf. INT032CS) ELITe InGenius PCR Cassette (EG SpA, réf. INT035PCR) 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., réf. TF-350-L-R-S), avec le ELITe InGenius uniquement 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Suisse, réf. 30180118), avec le ELITe BeGenius uniquement ELITe InGenius® Waste Box (EG SpA, réf. F2102-000)
ELITe BeGenius (EG SpA, réf. INT040) ELITe BeGenius Software version 2.1.0. (ou versions ultérieures) HIV1 ELITe_Be_STD , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs HIV1 ELITe_Be_PC , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif HIV1 ELITe_Be_NC , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif HIV1 ELITe_Be_PL_600_50 , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma	

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

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

Avertissements et précautions d'ordre général

Manipuler et éliminer tous les échantillons biologiques comme s'ils étaient infectieux. Éviter tout contact direct avec les échantillons biologiques. Éviter de provoquer des éclaboussures ou des pulvérisations. Les tubes, embouts et tout autre matériel qui a été en contact avec les échantillons biologiques doivent être traités pendant au moins 30 minutes avec de l'hypochlorite de sodium à 3 % (eau de Javel) ou autoclavés pendant une (1) heure à 121 °C avant d'être mis au rebut.

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

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

Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.

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

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

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

Lire attentivement toutes les instructions indiquées avant d'exécuter le test.

HIV1 ELITe MGB® Kit**réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel****REF RTK600ING**

Lors de l'exécution du test, suivre les instructions fournies avec le produit.
Ne pas utiliser le produit au-delà de la date de péremption indiquée.
Utiliser uniquement les réactifs fournis avec le produit et ceux recommandés par le fabricant.
Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.
Ne pas utiliser de réactifs commercialisés par d'autres fabricants.

Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

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

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

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

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

Les PCR Cassettes (Cassettes de PCR) doivent être manipulées avec précaution et ne doivent jamais être ouvertes afin d'éviter la diffusion des produits de PCR dans l'environnement, et toute contamination des échantillons et des réactifs.

Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

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

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING**ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES****Échantillons**

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

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

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

Utiliser les protocoles de test (Assay Protocols) suivants pour procéder au test des échantillons sur les **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius**. Ces protocoles de DIV ont été spécifiquement validés avec les ELITe MGB Kits et le **ELITe InGenius** ou **ELITe BeGenius** avec la matrice indiquée.

Protocoles de test pour le HIV1 ELITe MGB Kit				
Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
Plasma	ELITe InGenius	HIV1 ELITe_PL_600_50	Positif/copies/mL/UI/ mL/Négatif	Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1,7 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
Plasma	ELITe BeGenius	HIV1 ELITe_Be_PL_600_50	Positif/copies/mL/UI/ mL/Négatif	Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL

Pour tous les protocoles, 600 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube d'extraction (pour le ELITe InGenius) ou un tube Sarstedt de 2 mL (pour le ELITe BeGenius).

Remarque : le pipetage des échantillons dans le **tube d'extraction** ou le **tube Sarstedt de 2 mL** peut entraîner une contamination. Utiliser les pipettes appropriées et suivre toutes les recommandations indiquées à la section « Avertissements et précautions ».

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

Se reporter au paragraphe « Substances potentiellement interférentes » de la section « Caractéristiques de performance » pour obtenir de plus amples informations concernant les substances interférentes.

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

Calibrateurs et contrôles de la PCR

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

- Pour la courbe d'étalonnage, utiliser les quatre niveaux du produit **HIV1 ELITe Standard** inclus dans ce kit, avec les protocoles de test (Assay Protocols) **HIV1 ELITe_STD** ou **HIV1 ELITe_Be_STD**.

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

- Pour le Contrôle positif, utiliser le produit **HIV1 - ELITe Positive Control** inclus dans ce kit, avec les protocoles de test (Assay Protocols) **HIV1 ELITe_PC** ou **HIV1 ELITe_Be_PC**.
- Pour le Contrôle négatif, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **HIV1 ELITe_NC** ou **HIV1 ELITe_Be_NC**.

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

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

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

Contrôles de qualité

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

PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius

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

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

ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre le **ELITe InGenius** en marche et se connecter en mode « **CLOSED** » (FERMÉ),
- dans le menu « Calibration » (Étalonnage) de la page Home (Accueil), vérifier que les calibrateurs (**HIV1 Q-PCR Standard**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **HIV1 PCR Mix** à utiliser. Si aucun calibrateur valide n'est disponible pour le lot de **HIV1 PCR Mix**, effectuer un étalonnage comme décrit dans les sections suivantes,
- dans le menu « Controls » (Contrôles) de la page Home (Accueil), vérifier que les contrôles de PCR (**HIV1 Positive Control**, **HIV1 Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **HIV1 PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **HIV1 PCR Mix**, analyser les contrôles de PCR comme décrit dans les sections suivantes.
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et en utilisant les protocoles de test fournis par EG SpA (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).

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

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

ELITechGroup local.

ÉTAPE 2 - Paramétrage de la session d'analyse

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

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

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

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

Avant de paramétrer une analyse :

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

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

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

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

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

Nombre d'échantillons (N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL

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

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

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

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

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
1	<p>Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.</p> <p>Pour ce test, 600 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube d'extraction préalablement étiqueté. Le volume en excès sera laissé dans le tube d'extraction par le ELITe InGenius.</p> <p>Décongeler les tubes de CPE nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.</p>	<p>Décongeler le tube d'élution contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver le tube sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.</p>
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 1000 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 1000 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.
4	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
5	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
6	Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).
7	Sélectionner la position de chargement de l'échantillon en tant que « Extraction Tube » (Tube d'extraction) dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons). Vérifier que le « Dilution factor » (Facteur de dilution) est « 1,7 ».	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'élution [ligne du bas]). Vérifier que le « Dilution factor » (Facteur de dilution) est « 1,7 ».
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9	Charger le CPE et le mélange réactionnel complet sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du CPE et du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	Charger le mélange réactionnel complet sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR), les cartouches d'extraction ELITe InGenius SP 1000, et tous les consommables requis et échantillons à extraire.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes d'élution avec les échantillons extraits.
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
15	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
16	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

	C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
1	Décongeler les tubes de Q-PCR Standard nécessaires (Cal1 : Q-PCR Standard 10 ² , Cal2 : Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3 : Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4 : Q-PCR Standard 10 ⁵) à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Contrôle positif à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Préparer le Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élution) fourni avec le ELITe InGenius SP 1000 Consumable Set.
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 1000 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 1000 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.
4	Pour le Q-PCR Standard, attribuer la « Track » (Position), sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles ») et saisir le numéro de lot et la date de péremption du réactif.	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »). Saisir le numéro de lot et la date de péremption du Contrôle positif et de l'eau de qualité biologie moléculaire.
5	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).
6	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'élution [ligne du bas]).	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'élution [ligne du bas]).
7	Charger le mélange réactionnel complet sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	Charger le mélange réactionnel complet sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes de Q-PCR Standard.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR), le Contrôle positif et le Contrôle négatif.
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
14	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

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

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

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

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

étalons **Q - PCR Standard**.

Remarque : à la fin de l'analyse, le **Contrôle positif** restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C ou à une température plus basse. Éviter de renverser le **Contrôle positif**. Le Contrôle négatif restant doit être mis au rebut.

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

ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

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

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

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

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

- A. Validation de la courbe d'étalonnage,
- B. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif,
- C. Validation des résultats de l'échantillon,
- D. Rapport des résultats de l'échantillon.

A. Validation de la courbe d'étalonnage

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

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

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

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

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

Le **ELITE InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible des réactions du Contrôle positif et du Contrôle négatif avec les paramètres des protocoles de test (Assay Protocols) **HIV1 ELITE PC** et **HIV1 ELITE NC**. Les valeurs Ct résultantes sont converties en concentration et utilisées pour vérifier le système (lots de réactifs et instrument).

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

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

Le **ELITE InGenius Software** traite les résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif et génère des Control Charts (Graphiques de contrôle). Quatre résultats de Contrôle positif et de Contrôle négatif approuvés sont utilisés pour configurer le graphique de contrôle initial. Pour les contrôles ultérieurs, les résultats sont analysés par le logiciel pour s'assurer que les performances du système sont conformes aux critères d'acceptation, indiqués dans les tracés du graphique de contrôle. Se reporter au manuel de

l'instrument pour plus de détails.

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

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

C. Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELITe InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible (canal **HIV1**) et le Contrôle interne (canal **IC**) avec les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) **HIV1 ELITe_PL_600_50**. Les valeurs Ct des cibles résultantes sont converties en concentration.

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

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

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

Les résultats des échantillons sont automatiquement interprétés par le **ELITe InGenius Software** en utilisant les paramètres du Assay Protocol (Protocole de test). Les messages des résultats possibles d'un échantillon sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

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

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

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

S'il reste un volume d'éluat suffisant, l'éluat peut être à nouveau testé (pur ou dilué), par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR seulement). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'un nouvel échantillon en utilisant le mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) (voir la section « Problèmes et solutions »).

Les échantillons rapportés comme « HIV1:RNA Not Detected or below "LoD" copies / mL or IU / mL (VIH-1 : ARN non détecté ou inférieur à « LoD » copies/mL ou UI/mL) » sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter l'ARN du VIH-1. Dans ce cas, l'échantillon peut être négatif pour l'ARN du VIH-1 ou l'ARN du VIH-1 est présent à une concentration inférieure à la limite de détection du test (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

Les échantillons positifs pour l'ARN du VIH-1 à une concentration inférieure à la limite de détection (et à la limite inférieure de quantification) du test, s'ils sont détectés, sont rapportés comme « HIV1:RNA Detected, quantity below "LLOQ" copies / mL or IU / mL » (VIH-1 : ARN détecté, quantité inférieure à « LLOQ » copies/mL ou UI/mL) (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

Les échantillons positifs pour l'ARN du VIH-1 dans la plage de mesure linéaire (se reporter à la section « Caractéristiques de performance ») sont détectés et rapportés comme « HIV1:RNA Detected, quantity equal to "XXX" copies / mL or IU / mL » (VIH-1 : ARN détecté, quantité égale à « XXX » copies/mL ou UI/mL).

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

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

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

D. Rapport des résultats de l'échantillon

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

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

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

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

PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius

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

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

ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre le **ELITe BeGenius** en marche et se connecter en mode « **CLOSED** » (FERMÉ),
- dans le menu « Calibration » (Étalonnage) de la page Home (Accueil), vérifier que les calibrateurs (**HIV1 Q-PCR Standard**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **HIV1 PCR Mix** à utiliser. Si aucun calibrateur valide n'est disponible pour le lot de **HIV1 PCR Mix**, effectuer un étalonnage comme décrit dans les sections suivantes,

dans le menu « Controls » (Contrôles) de la page Home (Accueil), vérifier que les contrôles de PCR (**HIV1 Positive Control**, **HIV1 Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **HIV1 PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **HIV1 PCR Mix**, analyser les contrôles de PCR comme décrit dans les sections suivantes,

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

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

ÉTAPE 2 - Paramétrage de la session d'analyse

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

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

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

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

Avant de paramétrer une analyse :

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

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

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

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

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

Nombre d'échantillons (N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

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

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

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

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

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

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Pour ce test, 600 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube Sarstedt de 2 mL (non fourni) préalablement étiqueté. Le volume en excès sera laissé dans le tube Sarstedt de 2 mL par le ELITe BeGenius. Décongeler les tubes de CPE nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Si nécessaire, décongeler les tubes d'éluat contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Retirer tous les « Racks » de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
4	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
5	Charger les échantillons dans le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons). (Remarque : lorsque des tubes secondaires « 2 mL Tubes » sont chargés, utiliser les adaptateurs bleus pour le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons)).	Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Rack d'éluat).
6	Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 5 » (L5). Insérer le « Sample ID » (ID échantillon) (SID) pour chaque « Position » utilisée. (Si des tubes secondaires sont chargés, les marquer « 2 mL Tube » (Tube de 2 mL). Si les tubes secondaires ne comportent pas de code-barres, saisir manuellement le « Sample ID » [ID échantillon]).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'éluat) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Pour chaque « Position », saisir le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (Volume d'éluat extrait).
7	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 600 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluat de l'extraction) est de 50 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 600 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluat de l'extraction) est de 50 µL.
9	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6.	En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6.
12	Charger les « Elution tubes » (Tubes d'éluat) dans le « Elution Rack » (Rack d'éluat) (les tubes d'éluat peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité).	Non applicable
13	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'éluat) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure en utilisant la « Lane 2 » (L2).	Non applicable
15	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Non applicable

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
16	Charger le CPE et le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élué).	Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élué).
17	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élué) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Pour chaque PCR Mix et/ou CPE, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élué) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
18	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
19	Vérifier les embouts dans le(s) « Tip Rack(s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans le(s) « Tip Rack(s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.
20	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
21	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
22	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
23	Charger le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITe InGenius SP 1000 » et les consommables d'extraction requis.	Non applicable
24	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
25	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

	C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
1	Décongeler les tubes de Q-PCR Standard nécessaires (Cal1 : Q-PCR Standard 10 ² , Cal2 : Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3 : Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4 : Q-PCR Standard 10 ⁵) pendant 30 minutes à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Contrôle positif à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Préparer le Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élué) fourni avec le ELITe InGenius SP 1000 Consumable Set.
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
4	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
5	Charger les tubes de Q-PCR Standard dans le « Elution Rack » (Rack d'élué).	Charger les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif dans le « Elution Rack » (Rack d'élué).
6	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élué) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élué) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
7	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 600 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élué de l'extraction) est de 50 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 600 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élué de l'extraction) est de 50 µL.
9	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la

	C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
	« Échantillons et contrôles »).	section « Échantillons et contrôles »).
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).
12	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) de la « Cooler Unit ». Pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) de la « Cooler Unit ». Pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
13	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
14	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.
15	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
16	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
17	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
18	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

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

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

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

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

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

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

ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

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

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

HIV1 ELITE MGB® Kit

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

REF RTK600ING

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

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

- A. Validation de la courbe d'étalonnage,
- B. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif,
- C. Validation des résultats de l'échantillon,
- D. Rapport des résultats de l'échantillon.

Remarque : se reporter au paragraphe correspondant relatif à la **procédure avec le ELITE InGenius** pour connaître les détails.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Limite de détection (LoD)

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

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

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

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

Limite de détection (copies/mL) pour des échantillons de plasma ACD avec le ELITE InGenius			
Cible	LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
VIH-1	26	17	53

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

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

Équivalence des matrices : plasma EDTA versus plasma ACD

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

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

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

Échantillon	N	Positif	Négatif	PCN	% CV Ct du Contrôle Interne	% CV Ct globale du Contrôle Interne
Plasma EDTA	30	1	29	96,7 %	1,80	1,81
Plasma ACD	30	0	30		1,81	

HIV1 ELITE MGB® Kit

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

REF RTK600ING

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

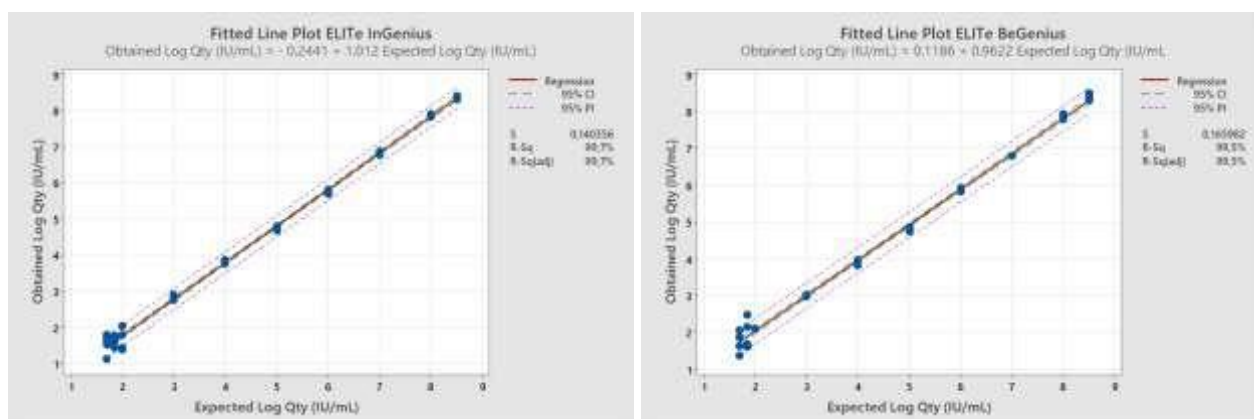
Dans ces tests, les 30 échantillons appariés de plasma EDTA et de plasma ACD ont montré des performances équivalentes lorsqu'ils ont été analysés à l'aide du HIV1 ELITE MGB® Kit en association avec le ELITE InGenius.

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

Plage de mesure linéaire

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

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



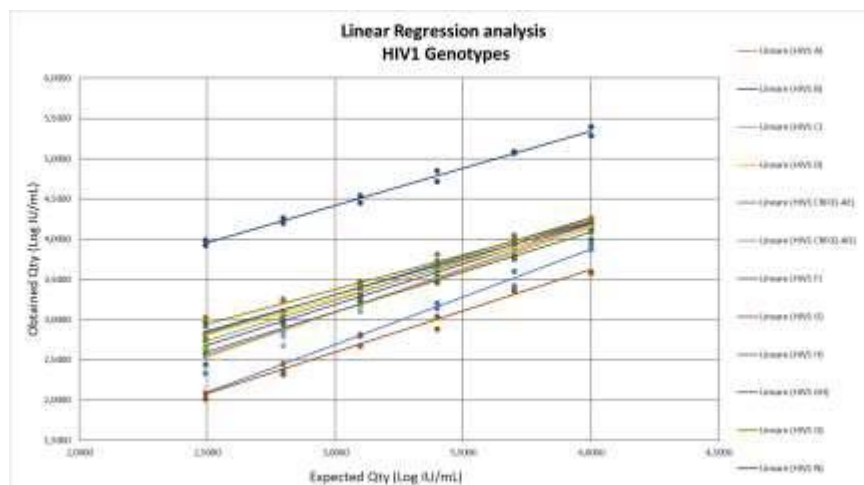
La plage de mesure linéaire en copies/mL pour le plasma EDTA est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué à la section suivante.

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Plage de mesure linéaire pour les échantillons de plasma EDTA avec le ELITE InGenius	
Limite inférieure	Limite supérieure
60 UI/mL	319300795 UI/mL
26 copies/mL	138 826 433 copies/mL

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

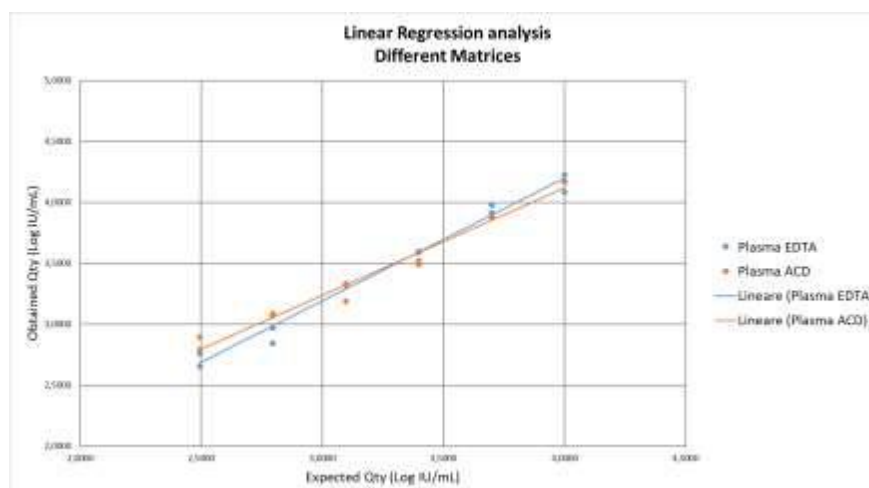
Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



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

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

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



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

Incertitude de la courbe d'étalonnage

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

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

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

Inclusivité : efficacité de détection et de quantification de différents génotypes

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

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

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

Panel de sous-types du VIH-1 d'Erlangen			
ID de l'échantillon	Souche	Pos./Rép.	Résultat
HIV1 A1	92UG029	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 A2	00KE KER2018	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 B1	92TH026	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 B2	90TH_BK132	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 C1	92BR025	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 C2	99ET_14	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 D1	92UG021	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 D2	92UG035	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 D3	92UG024	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 E1	92TH022	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 F1	93BR029	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 F2	93BR020	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 G	RU570	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 H	VI525	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 GH	VI557	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 AG1	01CM.0005BBY	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 AG2	01CM.0008BBY	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 N	YBF30	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 O1	MVP5180	3/3	VIH-1 détecté
HIV1 O2	CA-9	3/3	VIH-1 détecté

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

Marqueurs potentiellement interférents : réactivité croisée

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

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

ID de l'échantillon	VIH-1 Pos./Rép.	Résultat
VIH-2	3/3	Réactivité croisée
HTLV1	0/6	Aucune réactivité croisée
HTLV2	0/6	Aucune réactivité croisée
CMV	0/3	Aucune réactivité croisée
EBV	0/3	Aucune réactivité croisée
VHA	0/3	Aucune réactivité croisée
VHB	0/3	Aucune réactivité croisée
VHC	0/3	Aucune réactivité croisée
VHE	0/3	Aucune réactivité croisée
HSV1	0/3	Aucune réactivité croisée
HSV2	0/3	Aucune réactivité croisée
HHV6	0/3	Aucune réactivité croisée
VZV	0/3	Aucune réactivité croisée
Grippe A	0/3	Aucune réactivité croisée
Grippe B	0/3	Aucune réactivité croisée
RSV	0/3	Aucune réactivité croisée
ADV	0/3	Aucune réactivité croisée
VNO	0/3	Aucune réactivité croisée
DV3	0/3	Aucune réactivité croisée
EV	0/3	Aucune réactivité croisée
PVB19	0/3	Aucune réactivité croisée
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	Aucune réactivité croisée
<i>Candida albicans</i>	0/3	Aucune réactivité croisée

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

Marqueurs potentiellement interférents : inhibition

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

ID de l'échantillon	VIH-1 Pos./Rép.	Résultat
VIH-2	3/3	Aucune interférence
HTLV1	3/3	Aucune interférence
HTLV2	3/3	Aucune interférence
CMV	3/3	Aucune interférence
EBV	3/3	Aucune interférence
VHA	3/3	Aucune interférence
VHB	3/3	Aucune interférence
VHC	3/3	Aucune interférence
VHE	3/3	Aucune interférence
HSV1	3/3	Aucune interférence
HSV2	3/3	Aucune interférence
HHV6	3/3	Aucune interférence
VZV	3/3	Aucune interférence
Grippe A	3/3	Aucune interférence
Grippe B	3/3	Aucune interférence

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

ID de l'échantillon	VIH-1 Pos./Rép.	Résultat
RSV	3/3	Aucune interférence
ADV	3/3	Aucune interférence
VNO	3/3	Aucune interférence
DV3	3/3	Aucune interférence
EV	3/3	Aucune interférence
PVB19	3/3	Aucune interférence
<i>Staphylococcus aureus</i>	3/3	Aucune interférence
<i>Candida albicans</i>	3/3	Aucune interférence

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

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

Substances potentiellement interférentes : inhibition

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Echantillon	VIH-1 Pos./Rép.	Résultat
EDTA	3/3	Aucune interférence
Héparine	0/3	Interférence
Sang hémolytique, concentration élevée	3/3	Aucune interférence
Plasma lipémique	3/3	Aucune interférence
Plasma ictérique	3/3	Aucune interférence
Ganciclovir	3/3	Aucune interférence
Azithromycine	3/3	Aucune interférence
Abacavir	3/3	Aucune interférence
Emtricitabine	3/3	Aucune interférence
Lamivudine	3/3	Aucune interférence
Ténofovir	3/3	Aucune interférence
Doravirine	3/3	Aucune interférence
Efavirenz	3/3	Aucune interférence
Rilpivirine	3/3	Aucune interférence
Atazanavir	3/3	Aucune interférence
Darunavir	3/3	Aucune interférence
Bictégravir	3/3	Aucune interférence
Elvitégravir	3/3	Aucune interférence
Maraviroc	3/3	Aucune interférence

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

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

Contamination croisée

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

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

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

HIV1 ELITE MGB® Kit

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

REF RTK600ING

Taux de défaillance de l'ensemble du système

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

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

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

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

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

Répétabilité

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

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

Répétabilité intra-session avec le ELITE InGenius (Jour 1)								
Échantillon	VIH-1					Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)	Ct moyen	EC	% CV
Négatif	8	Indéterminé	-	-	100 %	29,15	0,30	1,04
3 x la LoD	8	35,02	0,40	1,14	100 %			
10 x la LoD	8	33,67	0,46	1,36	100 %			

Répétabilité intra-session avec le ELITE BeGenius (Jour 1)								
Échantillon	VIH-1					Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)	Ct moyen	EC	% CV
Négatif	8	Indéterminé	-	-	100 %	29,71	0,40	1,34
3 x la LoD	8	35,90	0,72	2,02	100 %			
10 x la LoD	8	33,94	0,62	1,83	100 %			

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

Répétabilité inter-sessions avec le ELITE InGenius (Jour 1 + Jour 2)								
Échantillon	VIH-1					Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)	Ct moyen	EC	% CV
Négatif	16	Indéterminé	-	-	100 %	29,05	0,32	1,10
3 x la LoD	16	35,09	0,27	0,78	100 %			
10 x la LoD	16	33,68	0,36	1,07	100 %			

Répétabilité inter-sessions avec le ELITE BeGenius (Jour 1 + Jour 2)								
Échantillon	VIH-1					Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)	Ct moyen	EC	% CV
Négatif	16	Indéterminé	-	-	100 %	29,78	0,32	1,06
3 x la LoD	16	35,99	0,59	1,64	100 %			
10 x la LoD	16	34,11	0,51	1,49	100 %			

Dans le test de répétabilité, le HIV1 ELITE MGB Kit a détecté la cible et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 1,64 %.

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING**Reproductibilité**

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

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

Reproductibilité inter-sites avec le ELITe InGenius								
Échantillon	VIH-1					Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)	Ct moyen	EC	% CV
Négatif	24	Indéterminé	-	-	100 %	29,51	0,40	1,36
3 x la LoD	24	35,01	0,66	1,88	100 %			
10 x la LoD	24	33,34	0,23	0,68	100 %			

Dans le test de reproductibilité inter-sites, le HIV1 ELITe MGB Kit a détecté la cible et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 1,88 %.

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

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

Reproductibilité inter-instruments avec le ELITe InGenius								
Échantillon	VIH-1					Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)	Ct moyen	EC	% CV
Négatif	24	Indéterminé	-	-	100 %	29,36	0,61	2,09
3 x la LoD	24	35,17	0,47	1,34	100 %			
10 x la LoD	24	33,76	0,30	0,88	100 %			

Reproductibilité inter-instruments avec le ELITe BeGenius								
Échantillon	VIH-1					Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)	Ct moyen	EC	% CV
Négatif	24	Indéterminé	-	-	100 %	29,97	0,74	2,47
3 x la LoD	24	35,86	0,59	1,65	100 %			
10 x la LoD	24	34,12	0,41	1,19	100 %			

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

Reproductibilité inter-lots avec le ELITe InGenius								
Échantillon	VIH-1					Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)	Ct moyen	EC	% CV
Négatif	48	Indéterminé	-	-	100 %	29,17	0,68	2,34
3 x la LoD	48	35,14	0,63	1,81	100 %			
10 x la LoD	48	33,64	0,41	1,22	100 %			

Reproductibilité inter-lots avec le ELITe BeGenius								
Échantillon	VIH-1					Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)	Ct moyen	EC	% CV
Négatif	48	Indéterminé	-	-	100 %	29,92	0,56	1,87
3 x la LoD	48	35,79	0,67	1,87	100 %			
10 x la LoD	48	34,06	0,33	0,98	100 %			

Dans le test de reproductibilité inter-instruments et inter-lots, le HIV1 ELITe MGB Kit a correctement détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 1,87 %.

Facteur de conversion en unités internationales

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

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

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

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING

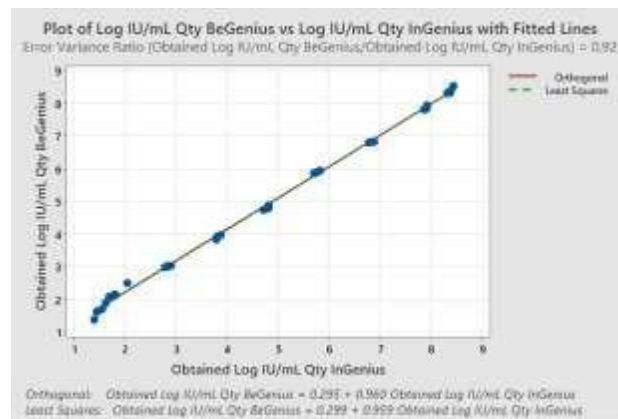
Facteur de conversion en unités internationales, Fc = 2,3 UI/copie

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

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

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

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



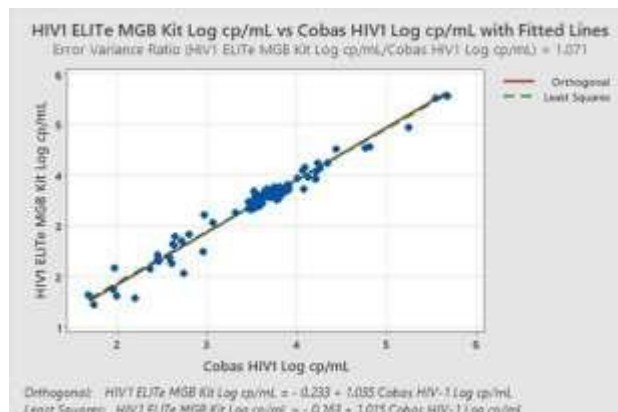
L'analyse de régression orthogonale génère une ordonnée à l'origine de -0,066 (IC à 95 % : -0,194 ; 0,061) et une pente de 0,998 (IC à 95 % : 0,953 ; 1,042). L'analyse de régression linéaire génère un R² de 0,991.

Sensibilité diagnostique : corrélation des méthodes

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

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

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



HIV1 ELITe MGB® Kit

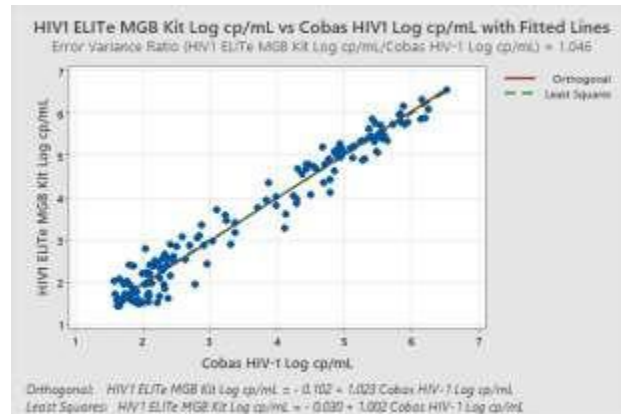
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK600ING

Dans ce test, l'analyse de régression orthogonale générait une pente de 1,035 (IC à 95 % : 0,991 ; 1,078) et une ordonnée à l'origine de -0,233 (IC à 95 % : -0,390 ; -0,075). L'analyse de régression linéaire générait un R^2 de 0,962.

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

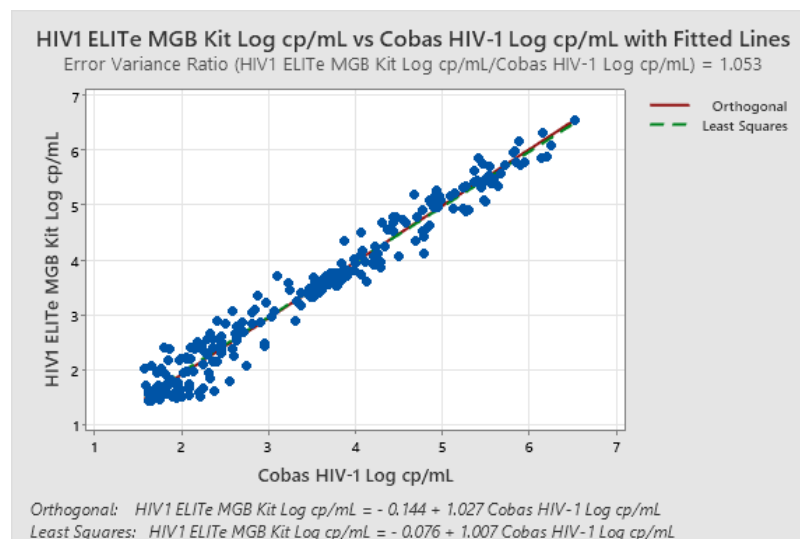
Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



Dans ce test, l'analyse de régression orthogonale générait une pente de 1,023 (IC à 95 % : 0,989 ; 1,056) et une ordonnée à l'origine de -0,102 (IC à 95 % : -0,229 ; 0,026). L'analyse de régression linéaire générait un R^2 de 0,961.

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

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



Dans ce test, l'analyse de régression orthogonale générait une pente de 1,027 (IC à 95 % : 1,001 ; 1,052) et une ordonnée à l'origine de -0,144 (IC à 95 % : -0,241 ; -0,047). L'analyse de régression linéaire générait un R^2 de 0,963.

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

HIV1 ELITE MGB® Kit

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

REF RTK600ING

Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

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

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

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

Trois échantillons ont généré un résultat positif discordant avec un titre inférieur à la LoD du HIV1 ELITE MBG Kit et des méthodes de référence. Ces échantillons peuvent générer des résultats positifs de manière aléatoire.

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

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

BIBLIOGRAPHIE

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

K. Linnet et al. (2004) *Clin. Chem.* **50**: 732 - 740.

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

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

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

<https://ltd.aruplab.com> (test number 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.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

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

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

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

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

Erreur de calcul de la valeur Ct	
Causes possibles	Solutions
Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon ou échantillon montrant une anomalie du signal de fluorescence.	<p>Si une amplification significative est observée dans la courbe de PCR, sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat comme positif.</p> <p>Si aucune amplification n'est observée dans la courbe de PCR, sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat comme négatif ou le laisser non valide.</p> <p>Si une valeur Ct est requise :</p> <ul style="list-style-type: none"> - répéter l'amplification de l'échantillon élué avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). - répéter l'extraction de l'échantillon avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

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

LÉGENDE DES SYMBOLES

Numéro de référence.



Limite supérieure de température.



Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.

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



Identifiant unique de dispositif



Contenu suffisant pour « N » tests.



Attention, consulter le mode d'emploi.



Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

AVIS AUX UTILISATEURS

Tout incident grave lié au dispositif doit être signalé au fabricant ainsi qu'à l'autorité compétente de l'état membre dans lequel réside l'utilisateur et/ou le patient. Au moment de la révision actuelle du mode d'emploi, aucun incident grave ou rappel ayant un impact sur la performance du produit et la sécurité du dispositif n'a été signalé.

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

HIV1 ELITe MGB® Kit

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

REF RTK600ING**NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE**

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

Les réactifs de détection ELITe MGB® sont couverts par un ou plusieurs brevets américains numéros 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 et par les brevets EP numéros 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161, ainsi que par des demandes de brevet actuellement en instance.

Les technologies ELITe InGenius® et ELITe BeGenius® sont couvertes par des brevets et des demandes en instance.

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

TaqMan™ est une marque de commerce de Thermo Fisher Scientific.

cobas® est une marque déposée de Roche Diagnostics.

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, le logo ELITe MGB®, ELITe InGenius® et ELITe BeGenius® sont des marques déposées d'ELITechGroup au sein de l'Union européenne.

HIV1 ELITe MGB® Kit used in association with Genius series®

Ref: RTK600ING



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

Intended use

The product **HIV1 ELITe MGB® Kit** is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as quantitative nucleic acids reverse transcription and Real-Time PCR assay for the detection and quantification of the RNA of Human Immunodeficiency Virus type 1 (HIV1), extracted from clinical specimens.

The assay is validated in association with ELITe InGenius® and ELITe BeGenius® instruments, automated and integrated systems for extraction, reverse transcription, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of plasma collected in EDTA or in ACD.

The product is intended for use as an aid in the management of HIV1-infected individuals undergoing antiviral therapy.

The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory outcomes.

The product is not intended to be used for screening or to detect the presence or the exposure to transmissible agents in blood, blood components, cells, tissues, organs or any of their derivatives in order to assess their suitability for transfusion, transplantation or cell administration. The product is not intended for use as a diagnostic test to confirm the presence of HIV1 infection.

Amplified sequence



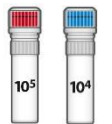


Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	HIV1 polymerase gene (integrase region)	FAM	HIV1
Internal Control	MS2	AP525	IC

Validated matrix

› Plasma EDTA

› Plasma ACD

Kit content

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

Maximum shelf-life: **18 months**

Storage Temperature: **-20 °C**

Material required not provided in the kit

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

ELITe InGenius and ELITe BeGenius protocol

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

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performance

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity: Method Correlation	Diagnostic Specificity
Plasma	60 IU / mL 26 copies / mL	R² = 0.963 237 quantified samples	98.8% 246 confirmed samples / 249 tested samples

reference methods:

“cobas® HIV1 for use on the 4800 Systems” and

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

Sample preparation

This product is intended for use on the **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®** with the following clinical specimens identified according to laboratory guidelines, and collected, transported, and stored under the following conditions.

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Plasma samples collected in EDTA or ACD	≤ 2 days	≤ 3 days	≤ 1 month	≤ 6 months

Do not use Plasma collected in heparin to prevent inhibition of amplification reaction and frequent invalid results.

ELITE InGenius Procedures

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

Before analysis

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

4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0.3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0.3 µL
N = 12	290 µL	4.4 µL

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

Procedure 1 - Complete run: Extraction +PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "1000 µL", elution: "50 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay protocol" of interest: HIV1 ELITE_PL_600_50	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the inventory block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 2 - PCR only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above (select the Assay Protocols: HIV1 ELITE_PC and HIV1 ELITE_NC or HIV1 ELITE_STD)	5. Select the method "PCR only" and set the sample position "Elution Tube"	6. Load the complete reaction mixture in the inventory block
7. Load: PCR cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

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

ELiTe BeGenius Procedures

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

Before analysis

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

4. Prepare the complete reaction mixture

Sample Number (N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0.3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0.3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4.4 μL
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0.3 \mu\text{L}$
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0.3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8.7 μL

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

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extraction and PCR»	2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the cooling area. The barcode scan is already active	3. Verify the extraction volumes: Input: "600 μL ", Eluate: "50 μL "
4. Select the "Assay protocol" of interest: HIV1 ELiTe_Be_PL_600_50	5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the cooling area	6. Load the complete reaction mixture and the CPE in Reagent Rack and insert it in the cooling area
Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4		
7. Load: Filter Tips, Extraction rack, and PCR rack	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 2 - PCR only

1. Select "Perform Run" on the touch screen and the click on the run mode «PCR Only»	2. Load the extracted nucleic acid barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the cooling area	3. Select the "Assay protocol" of interest (HIV1 ELiTe_Be_PC and HIV1 ELiTe_Be_NC or HIV1 ELiTe_Be_STD)
4. Load the complete reaction mixture in Reagent Rack and insert it in the cooling area Load filter tips and the PCR rack	5. Close the door. Start the run	6. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

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