



ELITech Group S.p.A.
C.so Svizzera, 185

10149 Torino ITALY

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

E. mail: emd.support@elitechgroup.com

WEB site: www.elitechgroup.com

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
EMPOWERING IVD



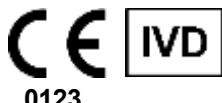
ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALY
Escritórios: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936
76 11
E-mail: emd.support@elitechgroup.com

HIV1 ELITe MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF

RTK600ING



-20°C

UDI

08033891487126

ÍNDICE

UTILIZAÇÃO PREVISTA	página 1
PRINCÍPIOS DO ENSAIO	página 2
DESCRIPÇÃO DO PRODUTO	página 2
MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO	página 3
MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO	página 3
OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS	página 4
AVISOS E PRECAUÇÕES	página 4
AMOSTRAS E CONTROLOS	página 5
PROCEDIMENTO DO ELITe InGenius	página 7
PROCEDIMENTO DO ELITe BeGenius	página 12
CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO	página 16
REFERÊNCIAS	página 26
LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO	página 27
RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS	página 28
SÍMBOLOS	página 31
NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES	página 31
NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA LIMITADA	página 32
ANEXO: GUIA DE INICIAÇÃO RÁPIDA	página A

UTILIZAÇÃO PREVISTA

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

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

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

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

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

PRINCÍPIOS DO ENSAIO

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

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

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

DESCRIÇÃO DO PRODUTO

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

- **HIV1 ELITe MGB Mix**

Este componente fornece os seguintes dois subcomponentes:

- **HIV1 PCR Mix**, uma mistura PCR otimizada e estabilizada que contém:

- primers e sondas específicos para o **HIV1**, gene da polimerase (região da integrase), detetados no canal **HIV1**; as sondas são estabilizadas por MGB®, inativadas pelo Eclipse Dark Quencher® e identificadas pelo corante FAM,
- primers e sondas específicos para Internal Control (**IC**), específico para uma região do ARN genómico **MS2** do fago, detetado no Canal **IC**; a sonda é estabilizada pelo MGB, inativada pelo Eclipse Dark Quencher e identificada com o corante AquaPhluor® AP525,
- tampão, cloreto de magnésio, trifosfatos de nucleótidos e ADN polimerase de início a quente.
- Cada tubo contém **600 µL** de solução e é suficiente para **24 testes**, se processar, pelo menos, 5 amostras por sessão.

- **RT EnzymeMix**, uma mistura otimizada e estabilizada de enzimas para a transcrição reversa. Cada tubo contém **20 µL** de solução e é suficiente para **48 testes**, se processar, pelo menos, 5 amostras por sessão.

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

- **HIV1 ELITe Standard**

HIV1 ELITe MGB® Kit
reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK600ING

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

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

A **HIV1 ELITe Standard** contém material suficiente para **2 sessões no ELITe InGenius e ELITe BeGenius**, sendo usados 20 µL por reação.

- **HIV1 - ELITe Positive Control**

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

O **HIV1 Positive Control** contém reagentes suficientes para **8 sessões no ELITe InGenius e ELITe BeGenius (4 sessões por tubo)**, sendo usados 20 µL por reação.

- **HIV1 Internal Control**

Este componente contém o subcomponente **HIV1 CPE** (Internal Control exógeno), uma solução estabilizada de ARN genómico MS2. O **HIV1 CPE** é adicionado aos reagentes de extração, para validar os resultados de amostras negativas para o HIV1.

O **HIV1 Internal Control** contém reagentes suficientes para **96 testes no ELITe InGenius e ELITe BeGenius (12 sessões por tubo)**, sendo usados 10 µL por extração.

O **HIV1 ELITe MGB Kit** pode também ser usado em associação com instrumentos equivalentes.

MATERIAIS FORNECIDOS NO PRODUTO

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

Nota: As concentrações dos quatro **Q – PCR Standards** são expressas em cópias/reAÇÃO (10^5 cópias / rxn, 10^4 cópias / rxn, 10^3 cópias / rxn, 10^2 cópias /rxn).

MATERIAIS NECESSÁRIOS MAS NÃO FORNECIDOS NO PRODUTO

- Exaustor de fluxo de ar laminar.
- Luvas sem pó de nitrilo descartáveis ou material semelhante.
- Misturador de vórtice.
- Centrífuga de bancada (~3000 RPM).
- Microcentrífuga de bancada (~13.000 RPM).
- Micropipetas e pontas estéreis com filtro de aerossol ou pontas de deslocação positiva estéreis (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tubos com tampa de rosca esterilizados de 2,0 mL (Sarstedt, Alemanha, ref. 72.694.005).
- Água de graus de biologia molecular.

OUTROS PRODUTOS NECESSÁRIOS

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

Instrumentos e software	Produtos e reagentes
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA ref. INT030) ELITe InGenius Software versão 1.3.0.17 (ou superior) HIV1 ELITe_STD , protocolo de ensaio com parâmetros para a análise dos calibradores HIV1 ELITe_PC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control HIV1 ELITe_NC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control HIV1 ELITe_PL_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de plasma	ELITe InGenius SP 1000 (EG SpA, ref. INT033SP1000) ELITe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, ref. INT032CS) ELITe InGenius PCR Cassette (EG SpA, ref. INT035PCR), 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., ref. TF-350-L-R-S) apenas com o ELITe InGenius 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Suíça, ref. 30180118) com o ELITe BeGenius apenas ELITe InGenius® Waste Box (EG SpA, ref. F2102-000)
ELITe BeGenius (EG SpA, ref. INT040) ELITe BeGenius Software versão 2.1.0. (ou superior) HIV1 ELITe_Be_STD , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de calibradores HIV1 ELITe_Be_PC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Positive Control HIV1 ELITe_Be_NC , protocolo de ensaio com parâmetros para análise do Negative Control HIV1 ELITe_Be_PL_600_50 , protocolo de ensaio com parâmetros para análise de amostra de plasma	

AVISOS E PRECAUÇÕES

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

Avisos e precauções gerais

Manuseie e elimine todas as amostras biológicas como se fossem infeciosas. Evite o contacto direto com as amostras biológicas. Evite salpicos ou vaporizações. Tubos, pontas e outros materiais que entrarem em contacto com as amostras biológicas devem ser tratados durante, pelo menos, 30 minutos com hipoclorito de sódio (lixívia) a 3% ou em autoclave durante uma hora a 121 °C antes da eliminação.

Manuseie e elimine todos os reagentes e todos os materiais usados na realização do ensaio como se fossem infeciosos. Evite o contacto direto com os reagentes. Evite salpicos ou vaporizações. Os resíduos devem ser manuseados e eliminados em conformidade com as normas de segurança adequadas. Os materiais combustíveis descartáveis devem ser incinerados. Os resíduos líquidos que contenham ácidos ou bases devem ser neutralizados antes da eliminação. Não permita que os reagentes de extração entrem em contacto com hipoclorito de sódio (lixívia).

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

Nunca deve pipetar soluções com a boca.

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

Lave cuidadosamente as mãos após manusear amostras e reagentes.

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

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

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

Não utilize o produto após a data de validade indicada.

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

Não use reagentes de lotes diferentes.

Não use reagentes de outros fabricantes.

Avisos e precauções para biologia molecular

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

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

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

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

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

As PCR Cassette devem ser manuseadas com cuidado de modo a evitar a emanação do produto da PCR para o ambiente e a contaminação da amostra e do reagente.

Avisos e precauções específicos para os componentes

Componente (Subcomponente)	Temperatura de armazenamento	Utilização a partir da primeira abertura	Ciclos de congelação/descongelação	Estabilidade no bloco (ELITe InGenius e ELITe BeGenius)
HIV1 ELITe MGB Mix (HIV1 PCR Mix)	-20°C ou inferior (protegido da luz)	60 dias	até cinco	não aplicável
HIV1 ELITe MGB Mix (RT EnzymeMix)	-20°C ou inferior	60 dias	até dez vezes, durante até dez minutos a +2 / +8 °C	não aplicável
HIV1 ELITe Standard (HIV1 Q-PCR Standard)	-20°C ou inferior	60 dias	até duas	2 sessões separadas de 2 horas cada
HIV1 - ELITe Positive Control (HIV1 Positive Control)	-20°C ou inferior	60 dias	até quatro	4 sessões separadas de 3 horas cada
HIV1 Internal Control (HIV1 CPE)	-20°C ou inferior	60 dias	até seis	6 sessões separadas de 3 horas cada

AMOSTRAS E CONTROLOS

Amostras

Este produto destina-se a ser usado no instrumento **ELITe InGenius** e no **ELITe BeGenius** com o ácido nucleico extraído das seguintes amostras clínicas identificadas e manuseadas de acordo com as diretrizes laboratoriais, e colhidas, transportadas e armazenadas sob as condições seguintes:

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

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

HIV1 ELITe MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK600ING

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

Protocolos de ensaio para o HIV1 ELITe MGB Kit				
Amostra	Instrumento	Nome do protocolo de ensaio	Relatório	Características
Plasma	ELITe InGenius	HIV1 ELITe_PL_600_50	Positivo/ cópias/mL/ IU/mL/ Negativo	Volume de inicial de extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicado: NÃO Fator de diluição: 1,7 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL
Plasma	ELITe BeGenius	HIV1 ELITe_Be_PL_600_50	Positivo/ cópias/mL/ IU/mL/ Negativo	Volume de inicial de extração: 600 µL Volume de eluição da extração: 50 µL Internal Control: 10 µL Sonicado: NÃO Fator de diluição: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume de entrada de PCR da amostra: 20 µL

Para todos os protocolos, 600 µL de amostra devem ser transferidos para o tubo de extração (para o ELITe InGenius) ou para o tubo Sarstedt de 2 mL (para o ELITe BeGenius).

Nota: A pipetagem de amostras para o **Extraction Tube** (Tubo de extração) ou para o **tubo Sarstedt de 2 mL** pode gerar contaminação. Utilize as pipetas adequadas e siga todas as recomendações reportadas na secção "Advertências e precauções".

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

Consulte "Substâncias Potencialmente Interferentes" na secção Características de Desempenho para verificar os dados relativos a substâncias interferentes.

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

Calibradores e controlos da PCR

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

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

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

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

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

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

- se for usado um novo lote de reagentes,
- os resultados da análise de controlo da qualidade se encontrarem fora da especificação (ver o parágrafo seguinte),

- for realizada qualquer reparação ou manutenção significativa no **ELITe InGenius** ou no **ELITe BeGenius**.

Controlos da qualidade

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

PROCEDIMENTO do ELITe InGenius

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

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

PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- ligar o **ELITe InGenius** e iniciar sessão no modo “CLOSED”,
- no menu “Calibration” (Calibração) na página inicial, verifique se os calibradores (**HIV1 Q-PCR Standard**) estão aprovados e válidos (Estado) para o lote de **HIV1 PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja calibradores válidos para o lote de **HIV1 PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito nas secções seguintes,
- no menu “Controls” (Controlos) da página inicial, verifique se os controlos de PCR (**HIV1 Positive Control, HIV1 Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **HIV1 PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote de **HIV1 PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes.
- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na interface gráfica do utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (ver “Amostras e Controlos”).

Se o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) que precisa não estiver carregado no sistema, contacte o Serviço de Apoio ao cliente da ELITechGroup de sua localidade.

PASSO 2 - Configuração da sessão

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

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

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

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

Antes de configurar uma execução:

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

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

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

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

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

Número de amostras (N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL

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

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

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

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

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extraír+PCR])	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
1	<p>Identifique amostras e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.</p> <p>Para este ensaio, 600 µL da amostra devem ser transferidos para um Tubo de extração anteriormente identificado. Qualquer volume em excesso será deixado no Extraction Tube (Tubo de extração) pelo ELITe InGenius.</p> <p>Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.</p>	<p>Descongele o Elution tube (Tubo de eluição) contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.</p>
2	Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.	Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.
3	Certifique-se de que o “Extraction Input Volume” (Volume inicial de extração) é de 1000 µL e que o “Extracted Elute Volume” (“Volume de eluição do extraído”) é de 50 µL.	Certifique-se de que o “Extraction Input Volume” (Volume inicial de extração) é de 1000 µL e que o “Extracted Elute Volume” (“Volume de eluição do extraído”) é de 50 µL.
4	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a “SampleID” (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.	Para cada amostra, atribua um Track e introduza a “SampleID” (SID) digitando ou lendo o código de barras da amostra.
5	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna “Assay” (Ensaio) (ver “Amostras e	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna “Assay” (Ensaio) (ver “Amostras e

HIV1 ELITe MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK600ING

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
	coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Controlos").
6	Certifique-se de que o "Protocol" (Protocolo) apresentado é: "Extract + PCR"(Extrair + PCR).	Selecione "PCR Only" (apenas PCR) na coluna "Protocol" (Protocolo).
7	Selecione a posição de carregamento da amostra como "Extraction Tube" "(Tubo de extração) na coluna "Sample Position" (Posição da amostra). Certifique-se de que o "Dilution factor" (Fator de diluição) é "1,7".	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]). Certifique-se de que o "Dilution factor" (Fator de diluição) é "1,7".
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	Carregue a CPE e a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote do CPE e PCR Mix, data de expiração e número de reações por cada tubo.	Carregue a mistura de reação completa no "Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote da mistura de PCR, data de validade e o número de reações para cada tubo.
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	Carregue a PCR Cassette , os cartuchos de extração Elite InGenius SP 1000 e todos os consumíveis e amostras necessários para serem extraídos.	Carregue a PCR Cassette e o Elution Tube (Tubo de eluição) com as amostras extraídas.
14	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
15	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
16	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

	C. Execução da calibração (PCR only [Apenas PCR])	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
1	Descongele os tubos de Q-PCR Standard necessários (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Prepare o Negative Control , transfira pelo menos 50 µL de água de qualidade para biologia molecular para um "Elution tube" (Tubo de eluição), fornecido com o ELITe InGenius SP 1000 Consumable Set.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".
3	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 1000 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 50 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 1000 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 50 µL.
4	Para o Q-PCR Standard, atribua a "Track", selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) (ver "Amostras e Controlos") na coluna "Assay" (Ensaio) e introduza o número do lote e a data de validade do Positive Control e da água de grau biológico molecular.	Selezione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos"). Introduza o número do lote e a data de validade do Positive Control e da água de grau biológico molecular.
5	Certifique-se de que "PCR Only" (Apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol" (Protocolo).	Certifique-se de que "PCR Only" (Apenas PCR) está selecionado na coluna "Protocol" (Protocolo).
6	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).	Certifique-se de que a posição de carregamento da amostra na coluna "Sample Position" (Posição da amostra) é "Elution Tube (bottom row)" (Tubo de eluição [linha inferior]).
7	Carregue a mistura de reação completa no "Inventory	Carregue a mistura de reação completa no "Inventory

	C. Execução da calibração (PCR only [Apenas PCR])	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
	"Inventory Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote da mistura de PCR, data de validade e o número de reações para cada tubo.	"Block" (Gestor do reagente) consultando a "Load List" (Lista de carregamentos) e introduza o número de lote da mistura de PCR, data de validade e o número de reações para cada tubo.
8	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
9	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de ponta) na "Inventory Area" (Área dos reagentes) e substitua "Tip Racks", se necessário.
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Carregue a PCR Cassette e os tubos de Q-PCR Standard.	Carregue a PCR Cassette, o Positive Control e Negative Control.
12	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
13	Fechar a porta do instrumento.	Fechar a porta do instrumento.
14	Prima "Start" (Iniciar)	Prima "Start" (Iniciar).

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

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

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

Nota: No final da execução, o restante **Q - PCR Standard** pode ser removido do instrumento, fechado e guardado a -20 °C ou menos. Evite derramar o **Q - PCR Standard**.

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

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

PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

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

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

O **ELITe InGenius** gera os resultados utilizando o **HIV1 ELITe MGB Kit** através do seguinte procedimento:

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

A. Validação da Curva de calibração

O **ELITe InGenius software** interpreta os resultados do PCR para o alvo das reações do calibrador

com os parâmetros do protocolo de ensaio **HIV1 ELITe_STD**. A Ct resultante versus a concentração produz a curva da calibração.

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

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

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

B. Validação dos resultados do Positive Control e Negative Control da amplificação

O software **ELITe InGenius** interpreta os resultados da PCR para os alvos das reações de Positive Control e Negative Control com os parâmetros dos protocolos de ensaio **HIV1 ELITe_PC** e **HIV1 ELITe_NC**. Os valores de Ct resultantes são convertidos em concentrações e usados para validar o sistema (lote de reagente e instrumento).

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

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

O **software ELITe InGenius** processa os resultados do Positive Control e do Negative Control e gera os Gráficos de Controlo. São usados quatro resultados de Positive Control e de Negative Control aprovados para preparar o Gráfico de Controlo inicial. Para controlos subsequentes, os resultados são analisados pelo software para garantir que os desempenhos do sistema se encontram dentro dos critérios de aceitação, mostrados nos traçados do Gráfico de controlo. Consulte o manual do instrumento para obter mais informações.

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

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

C. Validação dos resultados da amostra

O **software ELITe InGenius** interpreta os resultados de PCR para o alvo (canal **HIV1**) e o Internal Control (canal **IC**) com os parâmetros do protocolo de ensaio **HIV1 ELITe_PL_600_50**. Os valores de Ct do alvo resultante são convertidos em concentração.

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

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

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

Os resultados da amostra são automaticamente interpretados pelo **software ELITe InGenius** usando os parâmetros do Assay Protocol (Protocolo do ensaio). Estão listadas na tabela abaixo as possíveis mensagens de resultado.

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

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

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

Se restar volume de eluato suficiente, o eluato pode ser novamente testado (tal como está ou diluído) através de uma execução da amplificação no modo "PCR Only" (apenas PCR). Se o segundo resultado for inválido, a amostra deve ser novamente testada começando a partir da extração de uma nova amostra utilizando o modo "Extract + PCR" (Extrair+PCR). (ver "Resolução de problemas")

As amostras reportadas como "HIV1:RNA Not Detected or below "LoD" copies / mL or IU / mL" (HIV1:ARN não detetado ou abaixo "LoD" cópias/mL ou IU/mL) são adequadas para análise mas não foi detetado ARN de HIV1. Neste caso, a amostra pode ser negativa para ARN de HIV1 ou o ARN de HIV1 está presente numa concentração abaixo do limite de deteção do ensaio (ver "Características de desempenho").

Amostras positivas do ARN de HIV1 a uma concentração abaixo do Limite de Deteção (e Limite Inferior da Quantificação) do ensaio, se detetado, são relatadas como "HIV1:RNA Detected, quantity below "LLOQ" copies / mL or IU / mL" (HIV1:ARN detetado, quantidade abaixo "LLOQ" cópias/mL ou IU/mL) (ver "Características de desempenho").

Amostras positivas de ARN de HIV1 no Intervalo de Medição Linear (ver "Características de desempenho") são detetadas e relatadas como "HIV1:RNA Detected, quantity equal to "XXX" copies / mL or IU / mL" (HIV1:ARN detetado, quantidade igual a "XXX" cópias/mL ou IU/mL).

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

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

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

D. Elaboração do relatório do resultado da amostra

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

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

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

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

PROCEDIMENTO do ELITe BeGenius

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

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

PASSO 1 - Verificação da disponibilidade do sistema

Antes de iniciar a sessão:

- ligue o **ELITe BeGenius** e inicie sessão no modo “**CLOSED**” (fechado),
- no menu “Calibrations” (Calibrações) na página inicial, verifique se os calibradores (**HIV1 Q-PCR Standard**) estão aprovados e válidos (Estado) para o lote de **HIV1 PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja calibradores válidos para o lote de **HIV1 PCR Mix**, realize a calibração conforme descrito nas secções seguintes,
- no menu “Controls” (Controlos) da página inicial, verifique se os controlos de PCR (**HIV1 Positive Control**, **HIV1 Negative Control**) estão aprovados e válidos (estado) para o lote de **HIV1 PCR Mix** a ser utilizado. Caso não haja controlos de PCR válidos disponíveis para o lote da **HIV1 PCR Mix** execute os controlos de PCR conforme descrito nas secções seguintes,
- escolha o tipo de execução, seguindo as instruções na interface gráfica do utilizador (GUI) para a preparação da sessão e utilizando os protocolos de ensaio fornecidos pela EG SpA (ver “Amostras e Controlos”).

Se o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) que precisa não estiver carregado no sistema, contacte o Serviço de Apoio ao cliente da ELITechGroup de sua localidade.

PASSO 2 - Configuração da sessão

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

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

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

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

Antes de configurar uma execução:

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

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

HIV1 ELITe MGB® Kit
reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK600ING

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

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

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

Número de amostras (N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0,3 µL
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0,3 µL
N = 24	580 µL	8,7 µL

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

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

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

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

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
1	<p>Identifique amostras e, se necessário, descongele à temperatura ambiente, misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.</p> <p>Para este ensaio, 600 µL da amostra devem ser transferidos para um tubo Sarstedt de 2 mL (não fornecido) previamente identificado. Qualquer volume em excesso será deixado no tubo Sarstedt de 2 mL pelo ELITe BeGenius.</p> <p>Descongele os tubos de CPE necessários à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.</p>	<p>Se necessário, descongele os tubos de eluição contendo os ácidos nucleicos extraídos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.</p>
2	Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.	Selecione “Perform Run” (Executar) a partir do ecrã “Home”.
3	Retire os Suportes da “Cooler Unit” e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os “Racks” de “Lane 1, 2 and 3” (L1, L2, L3) da “Cooler Unit” e coloque-os na mesa de preparação
4	Selecione o “Run mode”: “Extract + PCR”(Extrair + PCR).	Selecione o “Run mode”: “PCR Only”.
5	<p>Carregue as amostras no “Sample Rack” (Suporte da amostras). (Nota: quando os tubos secundários “2 mL Tubes” (Tubos de 2 mL) forem carregados, use adaptadores azuis para o “Sample Rack” (Suporte de amostras).</p>	<p>Carregue as amostras no “Elution Rack”(Rack de eluição).</p>
6	<p>Insira o “Sample Rack” na “Cooler Unit” começando a partir da “Lane 5” (L5).</p> <p>Insira a “Sample ID” (Identificação da amostra) (SID) para cada “Position” usada. Se forem carregados tubos secundários, assinale “2 mL Tube” (Tubo de 2 mL). Se os tubos secundários não possuírem código de barras, digite</p>	<p>Insira o “Elution Rack” (rack de eluição) na “Cooler Unit” começando a partir da “Lane 3” (L3)</p> <p>Para cada “Position”, insira a “Sample ID”, a “Sample matrix”, o “Extraction kit” e o “Extracted eluate vol.” (volume de eluato extraído).</p>

HIV1 ELITe MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK600ING

	A. Execução da amostra (Extract + PCR [Extrair+PCR])	B. Execução de amostras eluídas (PCR Only [Apenas PCR])
	manualmente a "Sample ID" (Identificação da amostra)).	
7	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
8	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 600 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 50 µL.	Certifique-se de que o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) é de 600 µL e que o "Extracted Elute Volume" ("Volume de eluição do extraído") é de 50 µL.
9	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selecione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
10	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6.	Quando forem processadas mais de 12 amostras, repita o procedimento a partir do ponto 6.
12	Carregue os "Elution tubes" (Tubo de eluição) no "Elution Rack" (rack de eluição) (os tubos de eluição podem ser etiquetados com código de barras para melhorar a capacidade de localização).	Não aplicável.
13	Insira o "Elution Rack" na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Quando mais de 12 amostras forem processadas, repita usando a "Lane 2" (L2).	Não aplicável.
15	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Não aplicável.
16	Carregue CPE e a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).
17	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Para cada PCR Mix e/ou CPE, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2) se estiver disponível, ou na "Lane 1" (L1). Para cada PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
18	Selecione "Next" (Próximo) para continuar	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
19	Verifique as pontas nos "Tip Rack(s)" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Rack(s)" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.
20	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
21	Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com a " PCR Cassette " na Inventory Area (área dos reagentes).	Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com a " PCR Cassette " na Inventory Area (área dos reagentes).
22	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.	Selecione "Next" (Próximo) para continuar.
23	Carregue o "Extraction Rack" (Rack de extração) com os cartuchos de extração "ELITe InGenius SP 1000" e os consumíveis de extração necessários.	Não aplicável.
24	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
25	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

	C. Execução da calibração (PCR only [Apenas PCR])	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
1	Descongele os tubos de Q-PCR Standard necessários (Cal1: Q-PCR Standard 10 ² , Cal2: Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3: Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4: Q-PCR Standard 10 ⁵) durante 30 minutos à temperatura ambiente. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração.	Descongele os tubos de Positive Control à temperatura ambiente durante 30 minutos. Misture suavemente e, em seguida, centrifugue o conteúdo durante 5 segundos e mantenha em gelo ou no bloco de refrigeração. Prepare o Negative Control , transfira pelo menos 50 µL de água de qualidade para biologia molecular para um "Elution tube" (Tubo de eluição), fornecido com o ELITe InGenius SP 1000 Consumable Set.
2	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home".	Selecione "Perform Run" (Executar) a partir do ecrã "Home" (Página inicial)
3	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.	Retire os "Racks" de "Lane 1, 2 and 3" (L1, L2, L3) da "Cooler Unit" e coloque-os na mesa de preparação.
4	Selecione o "Run mode: PCR Only".	Selecione o "Run mode": "PCR Only".
5	Carregue os tubos de standard de Q-PCR no "Elution Rack" (Rack de eluição).	Carregue os tubos de Positive Control e Negative Control no "Elution Rack" (Rack de eluição).

	C. Execução da calibração (PCR only [Apenas PCR])	D. Execução de Positive Control e Negative Control (PCR Only [Apenas PCR])
6	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Se necessário, para cada "Position" introduza o "Reagent name" e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Elution Rack" (Rack de eluição) na "Cooler Unit" começando a partir da "Lane 3" (L3). Se necessário, para cada "Position" introduza o "Reagent name" e o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
7	Selezione "Next" (Próximo) para continuar.	Selezione "Next" (Próximo) para continuar.
8	Verifique o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) (600 µL) e o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluato do extraído) (50 µL).	Verifique o "Extraction Input Volume" (Volume inicial de extração) (600 µL) e o "Extracted Elute Volume" (Volume de eluato do extraído) (50 µL).
9	Selezione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").	Selezione o Assay Protocol (Protocolo de ensaio) na coluna "Assay" (Ensaio) (ver "Amostras e Controlos").
10	Selezione "Next" (Próximo) para continuar.	Selezione "Next" (Próximo) para continuar.
11	Carregue a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).	Carregue a mistura de reação completa no "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição).
12	Insira o "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição) na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2). Para cada PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).	Insira o "Reagent/Elution Rack" (Rack de reagente/eluição) na "Cooler Unit" na "Lane 2" (L2). Para cada PCR Mix, insira o "S/N" (número de série), o "Lot No." (número de lote), a "Exp. Date" (data de expiração) e o "T/R" (número de reações).
13	Selezione "Next" (Próximo) para continuar.	Selezione "Next" (Próximo) para continuar.
14	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.	Verifique as pontas nos "Tip Racks" (Suporte de Ponta) na "Inventory Area" (área dos reagentes) e substitua o suporte(s) de pontas, se necessário.
15	Selezione "Next" (Próximo) para continuar.	Selezione "Next" (Próximo) para continuar.
16	Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).	Carregue o "PCR Rack" (Rack de PCR) com a "PCR Cassette" na Inventory Area (área dos reagentes).
	Selezione "Next" (Próximo) para continuar.	Selezione "Next" (Próximo) para continuar.
17	Feche a porta do instrumento.	Feche a porta do instrumento.
18	Prima "Start" (Iniciar).	Prima "Start" (Iniciar).

Quando a sessão é concluída, o **ELITe BeGenius** permite aos utilizadores ver, aprovar, guardar os resultados e imprimir e guardar o relatório.

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

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

Nota: No final da execução, a restante **Q-PCR Standard** pode ser removida do instrumento, fechada e guardada a -20 °C ou menos. Evite derramar o Q - PCR Standard.

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

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

PASSO 3 - Revisão e aprovação dos resultados

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

HIV1 ELITe MGB® Kit
reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK600ING

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

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

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

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

Nota: Para mais informações, consulte o mesmo parágrafo do **Procedimento do ELITe InGenius**.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

Limite de deteção (LdD)

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

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

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

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

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

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

Os resultados obtidos confirmaram a alegada concentração para o alvo de HIV1 ELITe MGB Kit tanto no ELITe InGenius como no ELITe BeGenius.

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

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

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

Os resultados são comunicados nas tabelas seguintes.

Amostra	N	Positivo	Negativo	NPA	%CV do Ct do IC	%CV do Ct do IC completo
Plasma em EDTA	30	1	29	96,7%	1,80	1,81
Plasma em ACD	30	0	30		1,81	

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

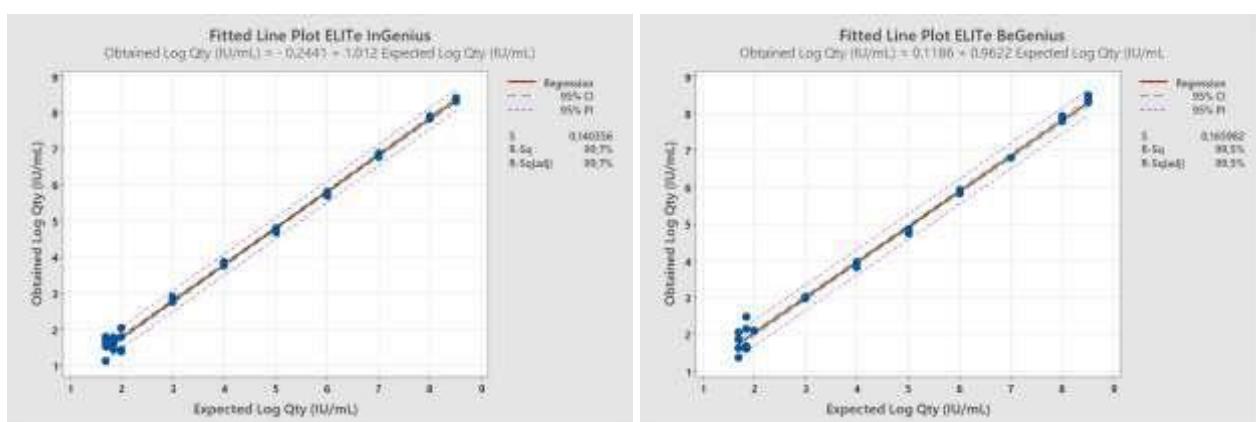
Nestes testes, tanto as 30 amostras emparelhadas de plasma em EDTA e como as de plasma em ACD demonstraram desempenhos equivalentes quando analisadas pelo HIV1 ELITE MGB® Kit em associação com o ELITE InGenius.

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

Intervalo de medição linear

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

Os resultados são comunicados na figura seguinte.



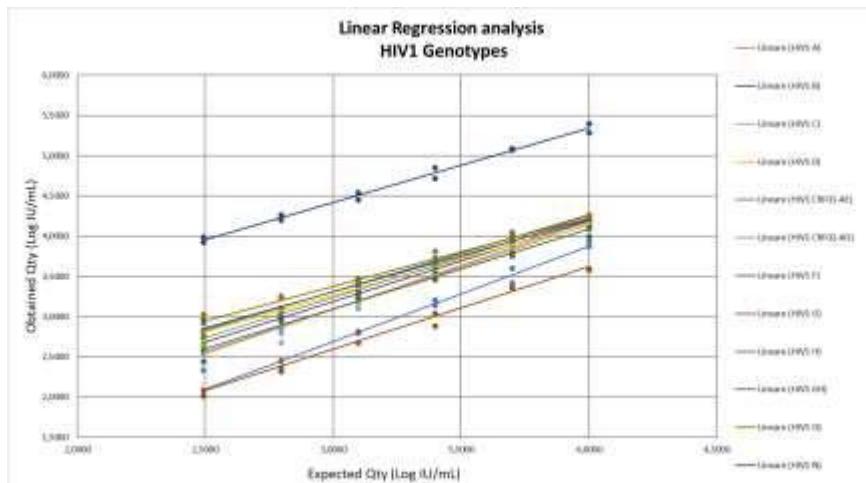
O intervalo de medição linear como cópias/mL para o plasma em EDTA é calculado através da aplicação do fator de conversão específico reportado na secção seguinte.

Os resultados finais estão resumidos na tabela seguinte.

Intervalo de medição linear para amostras de plasma em EDTA e o ELITE InGenius	
Limite inferior	Limite superior
60 IU/mL	319300795 IU/mL
26 cópias/mL	138.826.433 cópias/mL

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

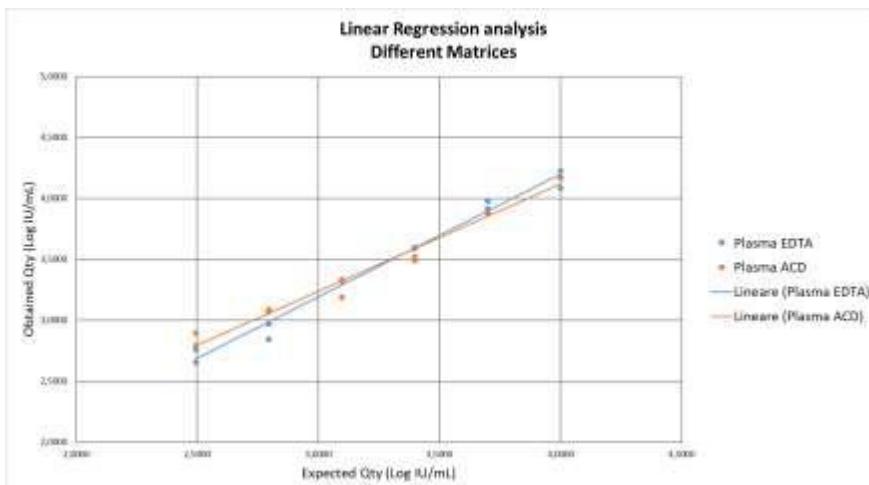
Os resultados são comunicados na figura seguinte.



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

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

Os resultados são comunicados na figura seguinte.



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

Incerteza da curva de standard

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

Níveis da curva de standard	Teórico	SD	Incerteza combinada alargada
	Log c/rxn		
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	

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

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

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

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

Painel do subtipo HIV-1 Erlangen			
Identificação da amostra	Estirpe	Pos. / Rep.	Resultado
HIV1 A1	92UG029	3/3	HIV1 detetado
HIV1 A2	00KE_KER2018	3/3	HIV1 detetado
HIV1 B1	92TH026	3/3	HIV1 detetado
HIV1 B2	90TH_BK132	3/3	HIV1 detetado
HIV1 C1	92BR025	3/3	HIV1 detetado
HIV1 C2	99ET_14	3/3	HIV1 detetado
HIV1 D1	92UG021	3/3	HIV1 detetado
HIV1 D2	92UG035	3/3	HIV1 detetado
HIV1 D3	92UG024	3/3	HIV1 detetado
HIV1 E1	92TH022	3/3	HIV1 detetado
HIV1 F1	93BR029	3/3	HIV1 detetado
HIV1 F2	93BR020	3/3	HIV1 detetado
HIV1 G	RU570	3/3	HIV1 detetado
HIV1 H	VI525	3/3	HIV1 detetado
HIV1 GH	VI557	3/3	HIV1 detetado
HIV1 AG1	01CM.0005BBY	3/3	HIV1 detetado
HIV1 AG2	01CM.0008BBY	3/3	HIV1 detetado
HIV1 N	YBF30	3/3	HIV1 detetado
HIV1 O1	MVP5180	3/3	HIV1 detetado
HIV1 O2	CA-9	3/3	HIV1 detetado

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

Marcadores potencialmente interferentes: Reatividade cruzada

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

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

Identificação da amostra	Pos./Rep. HIV1	Resultado
HIV2	3 / 3	Reatividade cruzada
HTLV1	0 / 6	Sem reatividade cruzada
HTLV2	0 / 6	Sem reatividade cruzada
CMV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
EBV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HAV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HBV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HCV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HEV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HSV1	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HSV2	0 / 3	Sem reatividade cruzada
HHV6	0 / 3	Sem reatividade cruzada
VZV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Flu A	0 / 3	Sem reatividade cruzada
Flu B	0 / 3	Sem reatividade cruzada
RSV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
ADV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
WNV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
DV3	0 / 3	Sem reatividade cruzada
EV	0 / 3	Sem reatividade cruzada
PVB19	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Staphylococcus aureus</i>	0 / 3	Sem reatividade cruzada
<i>Candida albicans</i>	0 / 3	Sem reatividade cruzada

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

Marcadores potencialmente interferentes: Inibição

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

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

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

HIV1 ELITe MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK600ING

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

Substâncias potencialmente interferentes: Inibição

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

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

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

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

Contaminação cruzada

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

Os resultados são comunicados na tabela seguinte.

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

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

Taxa de falha de todo o sistema

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

Os resultados estão resumidos na tabela seguinte.

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

HIV1 ELITe MGB® Kit

reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK600ING

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

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

Repetibilidade

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

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

Repetibilidade intra-sessão do ELITe InGenius (dia 1)								
Amostra	HIV1					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	8	Indet.	-	-	100%	29,15	0,30	1,04
3x o LoD	8	35,02	0,40	1,14	100%			
10x o LoD	8	33,67	0,46	1,36	100%			

Repetibilidade intra-sessão do ELITe BeGenius (dia 1)								
Amostra	HIV1					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	8	Indet.	-	-	100%	29,71	0,40	1,34
3x o LoD	8	35,90	0,72	2,02	100%			
10x o LoD	8	33,94	0,62	1,83	100%			

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

Repetibilidade inter-sessão do ELITe InGenius (dia 1 + dia 2)								
Amostra	HIV1					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	16	Indet.	-	-	100%	29,05	0,32	1,10
3x o LoD	16	35,09	0,27	0,78	100%			
10x o LoD	16	33,68	0,36	1,07	100%			

Repetibilidade inter-sessão do ELITe BeGenius (dia 1 + dia 2)								
Amostra	HIV1					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	16	Indet.	-	-	100%	29,78	0,32	1,06
3x o LoD	16	35,99	0,59	1,64	100%			
10x o LoD	16	34,11	0,51	1,49	100%			

No teste de repetibilidade, o HIV1 ELITe MGB Kit detetou o alvo e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 1,64%.

Reprodutibilidade

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

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

HIV1 ELITe MGB® Kit
reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK600ING

Reprodutibilidade interlocal do ELITe InGenius								
Amostra	HIV1					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	24	Indet.	-	-	100%	29,51	0,40	1,36
3x o LoD	24	35,01	0,66	1,88	100%			
10x o LoD	24	33,34	0,23	0,68	100%			

No teste de reprodutibilidade interlocal, o HIV1 ELITe MGB Kit detetou o alvo e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 1,88%.

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

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

Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITe InGenius								
Amostra	HIV1					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	24	Indet.	-	-	100%	29,36	0,61	2,09
3x o LoD	24	35,17	0,47	1,34	100%			
10x o LoD	24	33,76	0,30	0,88	100%			

Reprodutibilidade inter-instrumento do ELITe BeGenius								
Amostra	HIV1					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	24	Indet.	-	-	100%	29,97	0,74	2,47
3 x LdD	24	35,86	0,59	1,65	100%			
10 x LdD	24	34,12	0,41	1,19	100%			

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

Reprodutibilidade inter-lote do ELITe InGenius								
Amostra	HIV1					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	48	Indet.	-	-	100%	29,17	0,68	2,34
3x o LoD	48	35,14	0,63	1,81	100%			
10x o LoD	48	33,64	0,41	1,22	100%			

Reprodutibilidade inter-lote do ELITe BeGenius								
Amostra	HIV1					Internal Control		
	N	Ct médio	SD	% CV	% Concordância	Ct médio	SD	% CV
Negativo	48	Indet.	-	-	100%	29,92	0,56	1,87
3 x LdD	48	35,79	0,67	1,87	100%			
10 x LdD	48	34,06	0,33	0,98	100%			

No teste de reprodutibilidade inter-instrumento e inter-lote, o HIV1 ELITe MGB Kit detetou corretamente todas as amostras conforme esperado e apresentou uma variabilidade máxima dos valores de Ct do alvo como %CV igual a 1,87%.

Fator de conversão para unidades internacionais

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

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

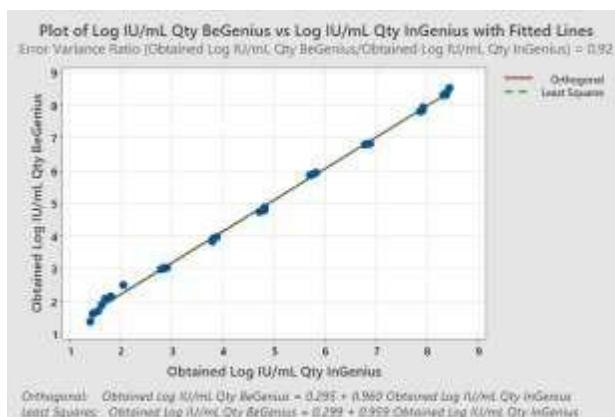
Na tabela seguinte é apresentado um resumo dos resultados.

Fator de conversão para unidades internacionais, Fc = 2,3 IU/cópia						
Amostra		Resultado			Média Registo IU / mL	Log diferença (ref. - teste)
IU/mL	IU/mL de Registro	N	Média c. / mL	Média IU / mL		
10.000	4,0000	27	4.052	9.320	3,9623	+0,0377
3.162	3,5000	26	1.379	3.172	3,4913	+0,0087
1.000	3,0000	27	500	1.149	3,0494	-0,0494
316	2,5000	27	156	359	2,5366	-0,0366

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

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

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



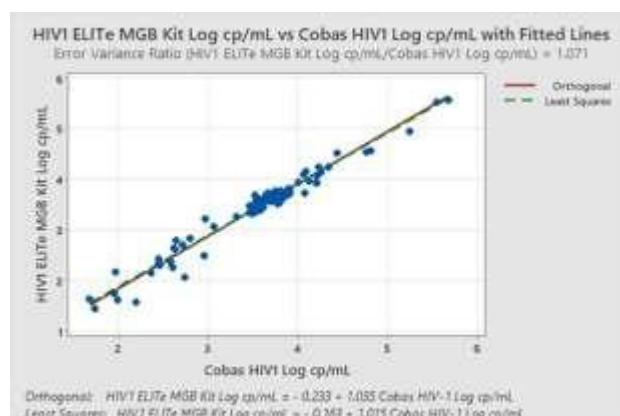
A análise de regressão ortogonal gerou uma interceção igual a 0,066 (95% CI: 0,194; 0,061) e um declive igual a 0,998 (95% CI: 0,953; 1,042) A análise de regressão linear gerou um R² de 0,991.

Sensibilidade de diagnóstico: correlação do método

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

O estudo de correlação foi realizado num local em 87 amostras clínicas positivas para ARN do HIV1 de plasma colhido em EDTA usando o “cobas® HIV-1 para utilização no sistema 6800” como comparador.

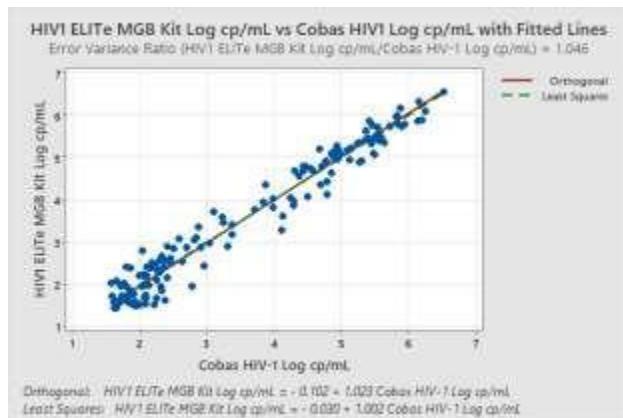
Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



Neste teste, a análise da regressão ortogonal gerou um declive igual a 1,035 (95% IC: 0,991; 1,078) e uma interceção igual a -0,233 (95% CI: -0,390 – -0,075). A análise de regressão linear gerou um R² de 0,962.

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

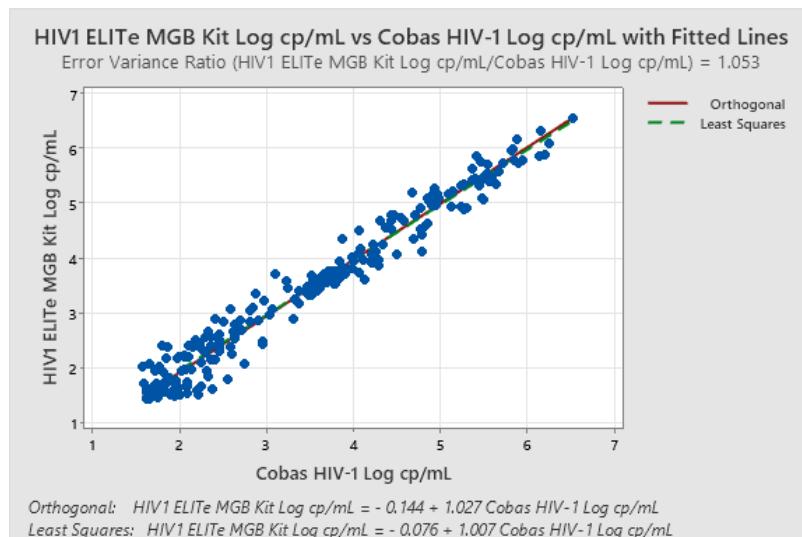
Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



Neste teste, a análise da regressão ortogonal gerou um declive igual a 1,023 (95% IC: 0,989; 1,056) e uma interceção igual a -0,102 (95% CI: -0,229 – 0,026). A análise de regressão linear gerou um R^2 de 0,961.

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

Os resultados estão resumidos na figura seguinte.



Neste teste, a análise da regressão ortogonal gerou um declive igual a 1,027 (95% IC: 1,001; 1,052) e uma interceção igual a -0,144 (95% CI: -0,241 – -0,047). A análise de regressão linear gerou um R^2 de 0,963.

Dado que o ELITe BeGenius tem desempenhos analíticos equivalentes ao ELITe InGenius, os desempenhos de diagnóstico do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, a sensibilidade do diagnóstico do ensaio obtida no ELITe InGenius também se aplica ao ELITe BeGenius.

HIV1 ELITe MGB® Kit
reagentes para transcrição reversa de ARN e PCR em tempo real

REF RTK600ING

Especificidade de diagnóstico: confirmação de amostras negativas

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

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

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

Três amostras deram resultados positivos discordantes com títulos mais baixos que o LdD do HIV1 ELITe MBG Kit e dos métodos de referência. Estas amostras podem gerar aleatoriamente resultados positivos.

Dado que o ELITe BeGenius tem desempenhos analíticos equivalentes ao ELITe InGenius, os desempenhos de diagnóstico do ensaio realizados nos dois instrumentos também foram considerados equivalentes. Por conseguinte, a especificidade do diagnóstico do ensaio obtida no ELITe InGenius também se aplica ao ELITe BeGenius.

Nota: Os dados e resultados completos dos testes realizados para avaliação das características de desempenho do produto com matriz e o instrumento estão registados no Ficheiro técnico do produto "HIV1 ELITe MGB Kit", FTP 600ING.

REFERÊNCIAS

- 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.
- Diretrizes DHHS 2019: "Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV".
- Relatório público da OMS sobre a pré-qualificação de diagnósticos in vitro (Relatório público da OMS sobre PQ), número PQDx 0365-118-00, 10/2020, versão 20.
<https://ltd.aruplab.com/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.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Possíveis polimorfismos, inserções ou deleções na região do ARN do alvo abrangida pelos primers

do produto e pelas sondas podem prejudicar a deteção e quantificação do ARN alvo.

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

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

RESOLUÇÃO DE PROBLEMAS

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

Reação de Negative Control inválida

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

Reação da amostra inválida

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

Curva de dissociação anómala

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

Erro no cálculo de Ct	
Causas possíveis	Soluções
Concentração demasiado alta do alvo na amostra ou amostra com sinal de fluorescência anómalo	<p>Se for observada uma amplificação significativa no gráfico de PCR, selecione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado como sendo positivo.</p> <p>Se não for observada uma amplificação significativa no gráfico de PCR, selecione o rastreio relacionado com a amostra e aprove manualmente o resultado como sendo negativo, ou deixe-o como inválido.</p> <p>Se for necessário um valor de Ct:</p> <ul style="list-style-type: none"> - repita a amplificação de amostra eluída com uma diluição 1:10 em água de grau de biologia molecular numa sessão "PCR Only" (Apenas PCR) - repita a extração da amostra com uma diluição 1:10 em água de qualidade para biologia molecular numa sessão "Extract + PCR" (Extrair + PCR).

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

SÍMBOLOS



Número de catálogo.



Límite máximo da temperatura.



Código de lote.



Prazo de validade (último dia do mês).



Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*.



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



Identificação única do dispositivo



Contém suficiente para "N" testes.



Atenção, consulte as instruções de utilização.



Conteúdo.



Maneado da luz solar.



Fabricante.

NOTIFICAÇÃO PARA OS UTILIZADORES

Qualquer incidente grave ocorrido relacionado com o dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e às autoridades competentes do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente se encontram localizados. No momento da revisão atual das IDU, não ocorreu nenhum incidente grave ou recolha de segurança com impacto no desempenho do produto e na segurança do dispositivo.

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

**NOTA PARA O ADQUIRENTE: LICENÇA
LIMITADA**

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

Os reagentes de deteção ELITe MGB® são abrangidos por um ou mais dos números de patente dos 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 e números de patente EP 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161 bem como pedidos que estejam atualmente pendentes.

As tecnologias ELITe InGenius® e ELITe BeGenius® estão protegidas por patentes e aplicações pendentes.

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

TaqMan™ é uma marca comercial da Thermo Fisher Scientific.

cobas® é uma marca comercial registada da Roche Diagnostics.

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, o logotipo ELITe MGB®, ELITe InGenius® e ELITe BeGenius® são marcas comerciais registadas da ELITechGroup na União Europeia.

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 ELiT[®]e InGenius[®] and ELiT[®]e 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 EnzymeMix 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		Copies: Copies/mL
› Total elution volume	50 µL	› Conversion factor to IU	2.3 IU/copy
› PCR elution input volume	20 µL	› Frequency of controls	15 days
› Complete PCR Mix volume	20 µL	› Frequency of calibration	60 days

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performance

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity: Method Correlation	Diagnostic Specificity
Plasma	60 IU / mL 26 copies / mL	R ² = 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: All must have been run, approved and not expired</i>	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

- 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 ≤ 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
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0.3 µL
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0.3 µL
N = 24	580 µL	8.7 µL

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