



NOTICE of CHANGE dated 07/06/2024

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HCV ELITe MGB[®] Kit» Ref. RTK601ING

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

- *Other products required: note regarding availability of HCV ELITe Standard (Ref STD601ING) and HCV - ELITe Positive Control (Ref CTR601ING) as separate products.*
- *ELITe BeGenius Procedure: detailed instructions for preparing the complete reaction mixture for samples number greater than 12 in association with ELITe BeGenius instrument.*
- *ELITe BeGenius Procedure: typing correction in Assay Protocol description.*
- *Warning and Precautions specific for the components: extension of the period of use of each reagent tube up to 60 days from first opening.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT



ELITechGroup
EMPOWERING IVD

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

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING



TABLE DES MATIÈRES

| | |
|--|---------|
| APPLICATION | page 1 |
| PRINCIPE DU TEST | page 2 |
| DESCRIPTION DU PRODUIT | page 3 |
| MATÉRIEL FOURNI | page 4 |
| MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI | page 4 |
| AUTRES PRODUITS REQUIS | page 4 |
| AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS | page 5 |
| ELITE INGENIUS® | page 7 |
| ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES | page 7 |
| PROCÉDURE | page 9 |
| ELITE BEGENIUS® | page 17 |
| ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES | page 17 |
| PROCÉDURE | page 19 |
| CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE DES ELITE INGENIUS® et ELITE BEGENIUS® | page 25 |
| BIBLIOGRAPHIE | page 41 |
| LIMITES DE LA PROCÉDURE | page 41 |
| PROBLÈMES ET SOLUTIONS | page 43 |
| LÉGENDE DES SYMBOLES | page 45 |
| NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE | page 46 |
| ANNEXE : GUIDE DE DÉMARRAGE RAPIDE | page A |

APPLICATION

Le produit **HCV ELITE MGB® Kit** est un test quantitatif de transcription inverse et d'amplification des acides nucléiques pour la **détection et la quantification de l'ARN** du virus de l'hépatite C (**VHC**) dans des échantillons d'ARN extraits d'échantillons cliniques.

Le test est capable de détecter l'ARN du VHC appartenant aux génotypes 1, 2, 3, 4, 5 et 6.

Le test a été validé en association avec les systèmes **ELITE InGenius®** et **ELITE BeGenius®** à partir d'échantillons de plasma humain prélevé sur EDTA ou ACD et d'échantillons de sérum.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide à la prise en charge des individus infectés par le VHC recevant une thérapie antivirale, en association avec les données cliniques du patient et d'autres résultats d'analyse de laboratoire.

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Ce produit n'est pas destiné à être utilisé comme un test de dépistage de la présence du VHC dans le sang ou les produits sanguins, ou comme un test diagnostique pour confirmer la présence d'une infection par le VHC.

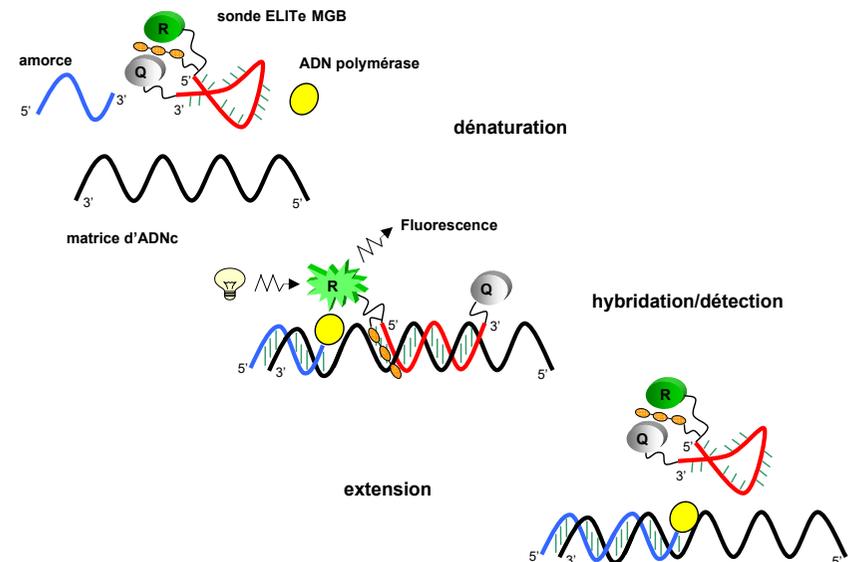
PRINCIPE DU TEST

Le test consiste en une réaction de transcription inverse et d'amplification en temps réel (méthode en une seule étape) sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, de transcription inverse, d'amplification et de détection des acides nucléiques, et d'interprétation des résultats.

À partir de l'ARN extrait de l'échantillon à tester à l'aide du **ELITE InGenius**, le mélange HCV PCR Mix complet effectue une réaction de transcription inverse et d'amplification spécifique à la région UTR 5' du VHC et à la région de l'ARN génomique du phage MS2 (contrôle interne exogène d'extraction et d'inhibition).

La sonde spécifique au VHC dotée de la technologie **ELITE MGB®**, marquée par le fluorophore FAM, est activée lorsqu'elle s'hybride avec le produit spécifique de la réaction d'amplification du VHC. La sonde spécifique au Contrôle interne dotée de la technologie **ELITE MGB®**, marquée par le fluorophore AP525, est activée lorsqu'elle s'hybride avec le produit spécifique de la réaction d'amplification du Contrôle interne. Lorsque le produit spécifique de la réaction d'amplification augmente, l'émission de fluorescence augmente également et est mesurée et enregistrée par l'instrument. Le traitement des données détermine la présence et le titre de l'ARN du VHC dans l'échantillon.

Les images suivantes illustrent de manière synthétique le mécanisme d'activation et l'émission de la fluorescence de la sonde dotée de la technologie **ELITE MGB**.



DESCRIPTION DU PRODUIT

Le produit **HCV ELITE MGB Kit** fournit les composants suivants :

• **HCV ELITE MGB Mix**

Ce composant fournit les deux sous-composants suivants :

- Le « **HCV PCR Mix** », un mélange optimisé et stabilisé d'oligonucléotides et de réactifs pour la transcription inverse et l'amplification en temps réel, pré-aliquoté dans **quatre tubes à essai** (capuchon BLANC). Chaque tube contient **600 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **24 tests** (traitement d'au moins 5 échantillons par session d'analyse) en association avec les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**.

Les amorces et les sondes pour le VHC (stabilisées par le groupe MGB®, marquées par le fluorophore FAM et désactivées par un fragment non fluorescent « Eclipse ») sont spécifiques à la région UTR 5' du VHC. Le signal du VHC est détecté par le Canal 1 (HCV) des **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**.

Les amorces et la sonde pour le contrôle interne (stabilisées par le groupe MGB®, marquées par le fluorophore AP525 et désactivées par un fragment non fluorescent « Eclipse ») sont spécifiques à une région de l'ARN génomique du phage **MS2**. Le signal du Contrôle interne est détecté par le Canal 2 (IC) des **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**.

Le mélange réactionnel fournit également le tampon, du chlorure de magnésium, les nucléotides triphosphates et l'enzyme ADN polymérase avec activation thermique (« hot start »).

- Le « **RT EnzymeMix** », un mélange optimisé et stabilisé d'enzymes pour la transcription inverse, pré-aliquoté dans **deux tubes à essai** (capuchon avec un insert NOIR). Chaque tube contient **20 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **48 tests** (traitement d'au moins 5 échantillons par session d'analyse) en association avec les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**.

Les deux sous-composants permettent d'effectuer **96 tests en association avec les ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, en utilisant respectivement 20 µL et 0,3 µL pour la réaction.

• **HCV ELITE Standard**

Ce composant fournit les sous-composants « **HCV Q-PCR Standard** », quatre solutions stabilisées d'ADN plasmidique ayant un **titre connu**, chacune étant aliquotée dans un **tube à essai prêt à l'emploi**. Chaque tube contient **160 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **2 sessions d'analyse**. L'ADN plasmidique contient la région UTR 5' du VHC. La détection et la quantification de l'ADN du VHC résultant de l'analyse avec le composant **HCV ELITE MGB Mix** en association avec les instruments **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** permet de calculer la courbe d'étalonnage du système (lot du produit et instrument) pour la quantification du VHC.

La concentration d'ADN plasmidique en copies/mL a été déterminée par une mesure de l'absorbance à l'aide d'un spectrophotomètre. Cette concentration d'ADN plasmidique est liée au « 6^e étalon international de l'OMS pour le VHC » (NIBSC, Royaume-Uni, code 18/184) par un facteur de conversion afin de calculer la concentration en unité internationale/mL (UI/mL).

Le composant permet d'effectuer **2 sessions d'analyse distinctes en association avec les ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, en utilisant 20 µL pour la réaction.

• **HCV - ELITE Positive Control**

Ce composant fournit le sous-composant « **HCV Positive Control** », une solution stabilisée d'ADN plasmidique ayant un **titre connu**, aliquotée dans **deux tubes à essai prêts à l'emploi**. Chaque tube à essai contient **160 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **4 sessions d'analyse**. L'ADN plasmidique contient la région UTR 5' du VHC. La détection et la quantification de l'ADN cible résultant de l'analyse avec le composant **HCV ELITE MGB Mix** en association avec les instruments **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** permet de valider le système (lot du produit et instrument) pour la détection et la quantification du VHC.

Le composant permet d'effectuer **8 sessions d'analyse distinctes en association avec les ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, en utilisant 20 µL pour la réaction.

• **HCV Internal Control**

Ce composant fournit le sous-composant « **HCV CPE** », une solution stabilisée d'ARN génomique du phage MS2 aliquotée dans **huit tubes à essai prêts à l'emploi**. Chaque tube contient **160 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **12 tests** (traitement d'au moins 2 échantillons par session d'analyse). L'ARN génomique du phage MS2 est utilisé en tant que matrice de contrôle interne exogène. La détection de l'ADNc du phage MS2 résultant de l'analyse avec le composant **HCV ELITE MGB Mix** en association avec les instruments **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** permet de valider les résultats des échantillons négatifs pour le VHC.

Le composant permet d'effectuer **96 tests en association avec les ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, en utilisant 10 µL pour l'extraction.

MATÉRIEL FOURNI

| Composant | Sous-composant | Description | Quantité | Classification des risques |
|---|--|---|------------|----------------------------|
| HCV ELITE MGB Mix réf. RTS601ING | HCV PCR Mix réf. RTS601ING | mélange de réactifs pour la transcription inverse et l'amplification en temps réel dans un tube doté d'un capuchon BLANC | 4 x 600 µL | - |
| | RT EnzymeMix réf. RTS003-RT | Transcriptase inverse dans un tube doté d'un capuchon avec un insert NOIR | 2 x 20 µL | - |
| HCV ELITE Standard réf. STD601ING | HCV Q-PCR Standard 10 ⁵ réf. STD601ING-5 | solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon ROUGE | 1 x 160 µL | - |
| | HCV Q-PCR Standard 10 ⁴ réf. STD601ING-4 | solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon BLEU | 1 x 160 µL | |
| | HCV Q-PCR Standard 10 ³ réf. STD601ING-3 | solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon VERT | 1 x 160 µL | |
| | HCV Q-PCR Standard 10 ² réf. STD601ING-2 | solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon JAUNE | 1 x 160 µL | |
| HCV - ELITE Positive Control réf. CTR601ING | HCV Positive Control réf. CTR601ING | solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon NOIR | 2 x 160 µL | - |
| HCV Internal Control réf. CPE601ING | HCV CPE réf. CPE601ING | Solution d'ADN plasmidiques et d'ARN génomique du phage MS2 dans un tube doté d'un capuchon NEUTRE | 8 x 160 µL | - |

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.
- Agitateur de type vortex.
- Microcentrifugeuse de paillasse (12 000 - 14 000 tr/min).
- Micropipettes et cônes stériles avec filtre pour les aérosols ou cônes stériles à déplacement positif (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tube Sarstedt de 2,0 mL à capuchon vissant, à collerette (Sarstedt Réf. 72.694.005).
- Eau de qualité biologie moléculaire.

AUTRES PRODUITS REQUIS

Les réactifs pour l'extraction de l'ARN des échantillons à analyser et les consommables ne sont pas inclus dans ce produit.

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Pour l'extraction automatique des acides nucléiques, la transcription inverse, l'amplification en temps réel et l'interprétation des résultats des échantillons à analyser, il est nécessaire d'utiliser les instruments **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, réf. INT030) et les **protocoles de test** spécifiques suivants (EG SpA) :

- paramètres pour l'amplification des calibrateurs « **HCV ELITe_STD** »,
- paramètres pour l'amplification du Contrôle positif « **HCV ELITe_PC** »,
- paramètres pour l'amplification du Contrôle négatif « **HCV ELITe_NC** »,
- paramètres pour les échantillons de plasma à analyser « **HCV ELITe_PL_600_50** »,
- paramètres pour les échantillons de sérum à analyser « **HCV ELITe_Se_600_50** ».

Les produits génériques suivants sont requis avec l'instrument « **ELITe InGenius** » :

- cartouches d'extraction « **ELITe InGenius® SP 1000** » (EG SpA, réf. INT033SP1000),
- consommables pour l'extraction « **ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set** » (EG SpA, réf. INT032CS),
- cartouches d'amplification « **ELITe InGenius® PCR Cassette** » (EG SpA, réf. INT035PCR),
- cônes « **300 µL Filter Tips Axygen** » (Axygen BioScience Inc., CA, États-Unis, réf. TF-350-L-R-S),
- conteneurs « **ELITe InGenius® Waste Box** » (EG SpA, réf. F2102-000).

Pour l'extraction des acides nucléiques et l'analyse des échantillons avec le système « **ELITe BeGenius** » (ELITechGroup S.p.A., réf. INT040), les **protocoles de test** (Assay Protocols) suivants (ELITechGroup S.p.A.) sont requis :

- paramètres pour l'amplification des calibrateurs « **HCV ELITe_Be_STD** »,
- paramètres pour l'amplification du Contrôle positif « **HCV ELITe_Be_PC** »,
- paramètres pour l'amplification du Contrôle négatif « **HCV ELITe_Be_NC** »,
- paramètres pour les échantillons de plasma à analyser « **HCV ELITe_Be_PL_600_50** »,
- paramètres pour les échantillons de sérum à analyser « **HCV ELITe_Be_Se_600_50** ».

Les produits génériques suivants sont requis avec l'instrument **ELITe BeGenius** :

- cartouches d'extraction « **ELITe InGenius® SP 1000** » (EG SpA, réf. INT033SP1000),
- consommables pour l'extraction « **ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set** » (EG SpA, réf. INT032CS),
- cartouches d'amplification « **ELITe InGenius® PCR Cassette** » (EG SpA, réf. INT035PCR),
- cônes « **1000 µL Filter Tips Tecan** » (Tecan, Suisse, réf. 30180118),
- conteneurs « **ELITe InGenius® Waste Box** » (EG SpA, réf. F2102-000).

Remarque : si nécessaire, les calibrateurs et le Contrôle positif sont également disponibles sous forme de produits distincts : **HCV ELITe Standard**, réf. STD601ING, et **HCV - ELITe Positive Control**, réf. CTR601ING.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

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

Avertissements et précautions d'ordre général

Manipuler et mettre au rebut tous les échantillons biologiques comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Éviter tout contact direct avec les échantillons biologiques. Éviter de provoquer des éclaboussures ou des pulvérisations. Le matériel qui a été en contact avec les échantillons biologiques doit être traité pendant au moins 30 minutes avec de l'hypochlorite de sodium à 3 % (eau de Javel) ou autoclavé pendant une (1) heure à 121 °C avant d'être mis au rebut. Éviter tout contact des réactifs d'extraction avec l'hypochlorite de sodium (eau de Javel).

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

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

Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.

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

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

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

Lire attentivement toutes les instructions fournies avec le produit avant d'exécuter le test.

Lors de l'exécution du test, suivre les instructions fournies avec le produit.

Ne pas utiliser le produit au-delà de la date de péremption indiquée.

Utiliser uniquement les réactifs fournis avec le produit et ceux recommandés par le fabricant.

Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.

Ne pas utiliser de réactifs commercialisés par d'autres fabricants.

Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

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

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

Les cônes utilisés doivent être stériles, exempts de DNases et de RNases, et exempts d'ADN et d'ARN.

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

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

Les cassettes de PCR doivent être manipulées de sorte à éviter la diffusion des produits d'amplification dans l'environnement, et toute contamination des échantillons et des réactifs.

Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

- **HCV ELITe MGB Mix**

Le **HCV PCR Mix** doit être conservé à une température inférieure à -20 °C dans l'obscurité.

Le **HCV PCR Mix** doit être utilisé dans les 60 jours qui suivent l'ouverture du premier tube.

Le **HCV PCR Mix** peut être congelé et décongelé **cinq fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

Le **RT EnzymeMix** doit être conservé à une température inférieure à -20 °C.

Le **RT EnzymeMix** doit être utilisé dans les 60 jours qui suivent l'ouverture du premier tube.

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

Le **RT EnzymeMix** ne doit pas être exposé à des températures supérieures à -20 °C à **plus de dix reprises** : des utilisations supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

HCV ELITE MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en
temps réel

REF RTK601ING

HCV ELITE MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en
temps réel

REF RTK601ING

- **HCV ELITE Standard**

Le **HCV Q-PCR Standard** doit être conservé à une température inférieure à -20 °C.

Le **HCV Q-PCR Standard** doit être utilisé dans les 60 jours qui suivent l'ouverture du premier tube.

Le **HCV Q-PCR Standard** peut être congelé et décongelé **deux fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction du titre.

Le **HCV Q-PCR Standard** peut être conservé dans les instruments **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** pendant un maximum de **deux sessions de travail indépendantes de deux heures chacune** (mode d'analyse « PCR Only » [PCR seulement]).

- **HCV - ELITE Positive Control**

Le **HCV Positive Control** doit être conservé à une température inférieure à -20 °C.

Le **HCV Positive Control** doit être utilisé dans les 60 jours qui suivent l'ouverture du premier tube.

Le **HCV Positive Control** peut être congelé et décongelé **quatre fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

Le **HCV Positive Control** peut être conservé dans les instruments **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** pendant un maximum de **quatre sessions de travail indépendantes de trois heures chacune** [mode d'analyse « Extract + PCR Only » (Extraction + PCR seulement)].

- **HCV Internal Control**

Le **HCV CPE** doit être conservé à une température inférieure à -20 °C.

Le **HCV CPE** doit être utilisé dans les 60 jours qui suivent l'ouverture du premier tube.

Le **HCV CPE** peut être congelé et décongelé **douze fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

Le **HCV CPE** peut être conservé dans les instruments **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** pendant un maximum de **six sessions de travail indépendantes de trois heures chacune** [mode d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR)].

ELITE InGenius

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

Ce produit doit être utilisé avec les échantillons cliniques suivants :

Plasma prélevé sur EDTA ou ACD

Les échantillons de plasma pour l'extraction des acides nucléiques doivent être prélevés sur EDTA ou ACD et identifiés conformément aux directives du laboratoire, et doivent être transportés et conservés à température ambiante (entre +18 et +25 °C) pendant 24 heures au maximum ou entre +2 et +8 °C pendant 3 jours au maximum. Sinon, ils doivent être congelés et conservés à -20 °C pendant 1 mois au maximum ou à -70 °C pendant 6 mois.

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

Remarque : l'extraction d'ARN à partir de plasma prélevé sur EDTA ou ACD est effectuée à l'aide du système **ELITE InGenius** et du **ELITE InGenius Software** version 1.3 (ou versions ultérieures équivalentes) en utilisant le protocole de test (Assay Protocol) **HCV ELITE_PL_600_50**. Ce protocole comprend le traitement de 600 µL d'échantillon, en commençant à partir du tube secondaire, l'ajout du **HCV CPE** (Contrôle interne) à 10 µL par extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 50 µL. Le tube primaire ne peut pas être utilisé en association avec le protocole de test.

Les acides nucléiques purifiés peuvent être conservés à -20 °C pendant un mois.

Sérum

Les échantillons de sérum destinés à l'extraction de l'ARN doivent être prélevés et identifiés conformément aux directives du laboratoire, et doivent être transportés et conservés à température ambiante (environ +25 °C) pendant trois jours au maximum ou entre +2 et +8 °C pendant cinq jours au maximum. Sinon, ils doivent être congelés et conservés à environ -20 °C pendant un mois au maximum ou à environ -70 °C pendant 6 mois.

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

Remarque : l'extraction d'ARN à partir de sérum est effectuée à l'aide du système **ELITE InGenius** et du **ELITE InGenius Software** version 1.3 (ou versions ultérieures équivalentes) en utilisant le protocole de test (Assay Protocol) **HCV ELITE_Se_600_50**. Ce protocole comprend le traitement de 600 µL d'échantillon, l'ajout du **HCV CPE** (contrôle interne) à 10 µL par extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 50 µL. Le tube primaire ne peut pas être utilisé en association avec le protocole de test.

Les acides nucléiques purifiés peuvent être conservés à -20 °C pendant un mois.

Autres échantillons

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

Substances interférentes

Les données disponibles concernant l'inhibition provoquée par les médicaments et d'autres substances sont fournies au paragraphe « Substances potentiellement interférentes » de la section « Caractéristiques de performance ».

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

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

Contrôles d'amplification

Avant d'analyser un échantillon, il est absolument indispensable de générer et d'approuver la courbe d'étalonnage et les contrôles d'amplification pour chaque lot de réactifs d'amplification :

- à titre de jeu de calibrateurs, utiliser les quatre niveaux de concentration du composant **HCV ELITE Standard** inclus dans ce kit, en association avec le protocole de test **HCV ELITE_STD**,
- à titre de contrôle positif d'amplification, utiliser le composant **HCV - ELITE Positive Control** inclus dans ce kit, en association avec le protocole de test **HCV ELITE_PC**,
- à titre de contrôle négatif d'amplification, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) en association avec le protocole de test **HCV ELITE_NC**.

Remarque : le système **ELITE InGenius** exige que les résultats de la courbe d'étalonnage et des contrôles d'amplification soient approuvés et valides pour chaque lot de réactifs d'amplification stocké dans sa base de données.

Les courbes d'étalonnage, approuvées et stockées dans la base de données, expirent au bout de **60 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser les étalons Q-PCR Standards en association avec le lot de réactifs d'amplification.

Les résultats des contrôles d'amplification, approuvés et stockés dans la base de données, expirent au bout de **15 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser les Contrôles positif et négatif en association avec le lot du réactif d'amplification.

En outre, les calibrateurs et les contrôles d'amplification doivent être réanalysés lorsque :

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

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

Contrôles de qualité

Il est recommandé de planifier la validation de la procédure d'extraction et d'amplification. À cette fin, il est possible d'utiliser les échantillons testés ou un matériel de référence certifié. Les contrôles externes doivent être utilisés conformément aux exigences des organismes d'accréditation locaux, régionaux et nationaux en vigueur.

PROCÉDURE

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

- Vérification de la préparation du système,
- Paramétrage de la session d'analyse,
- Examen et exportation des résultats.

Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse, en se référant à la documentation de l'instrument, il est nécessaire de :

- mettre le **ELITe InGenius** en marche et sélectionner le mode de connexion « **CLOSED** » (FERMÉ),
 - vérifier que les calibrateurs (**HCV Q-PCR Standard**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **HCV PCR Mix** à utiliser. Si aucun calibrateur valide n'est disponible pour le lot de **HCV PCR Mix**, effectuer une calibration comme décrit ci-dessous, et vérifier que les contrôles d'amplification (**HCV Positive Control**, **HCV Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **HCV PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle valide n'est disponible pour le lot de **HCV PCR Mix**, analyser les contrôles comme décrit ci-dessous. Ceci peut être vérifié dans le menu « Control » (Contrôle) de la page Home (Accueil) ; choisir le type d'analyse, suivre les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et utiliser les protocoles de test fournis par ELITechGroup S.p.A. Ces protocoles de DIV ont été spécifiquement validés avec les ELITe MGB Kits et l'instrument ELITe InGenius avec les matrices indiquées.
- Les protocoles de test disponibles pour tester des échantillons à l'aide du produit **HCV ELITe MGB Kit** sont décrits dans le tableau ci-dessous :

| Protocole de test pour le HCV ELITe MGB Kit | | | |
|---|---------|-------------------------------------|---|
| Nom | Matrice | Rapport | Caractéristiques |
| HCV ELITe_PL_600_50 | Plasma | Positif/copies/mL/UI/mL/ Négatif | Volume d'extraction : 600 µL Volume d'éluion de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1,7 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL |

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

| Protocole de test pour le HCV ELITe MGB Kit | | | |
|---|---------|-------------------------------------|---|
| Nom | Matrice | Rapport | Caractéristiques |
| HCV ELITe_Se_600_50 | Sérum | Positif/copies/mL/UI/mL/ Négatif | Volume d'extraction : 600 µL Volume d'éluion de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1,7 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL |

UI, unités internationales

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

Paramétrage de la session d'analyse

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

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

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

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

Avant de commencer la session d'analyse, il est absolument indispensable de procéder comme suit :

1. Décongeler les tubes de **HCV PCR Mix** (capuchon BLANC) nécessaires à température ambiante (environ +25 °C) pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer 24 réactions dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Agiter les tubes au vortex à trois reprises pendant 10 secondes, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes dans de la glace,

Remarque : décongeler le **HCV PCR Mix** dans l'obscurité car ce réactif est sensible à la lumière.

2. Sortir les tubes de **RT EnzymeMix** (capuchon avec un insert NOIR) nécessaires. Chaque tube permet de paramétrer 48 tests. Agiter délicatement les tubes, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes dans de la glace,

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

3. Préparer un tube à capuchon vissant de 2 mL (Sarstedt réf. 72.694.005, non inclus dans le kit) pour le **mélange réactionnel complet** et le marquer de manière reconnaissable avec un marqueur permanent,
4. Calculer les volumes des deux sous-composants qui sont nécessaires à la préparation du **mélange réactionnel complet** sur la base du nombre d'échantillons à analyser, comme décrit dans le tableau suivant.

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Remarque : pour calculer les volumes des deux sous-composants à utiliser pour la préparation du **mélange réactionnel complet**, il est nécessaire de définir le nombre d'échantillons (N) à tester au cours de la session d'analyse et de suivre le tableau ci-dessous.

| Nombre d'échantillons (N) | HCV 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 |

- Préparer le **mélange réactionnel complet** en ajoutant les volumes calculés des deux composants au tube de 2 mL dédié.
- Agiter **au vortex à basse vitesse** à trois reprises pendant 10 secondes, centrifuger pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver le tube sur de la glace.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** doit être utilisé dans les 7 heures s'il est conservé dans le bloc réfrigéré. Le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être conservé pour être réutilisé.

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

Les principales étapes du paramétrage des trois types d'analyse sont décrites dans les paragraphes suivants.

A. Analyse intégrée

Pour paramétrer une analyse intégrée avec une extraction et une amplification d'échantillon, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

- Décongeler à température ambiante (environ +25 °C) les tubes à essai contenant les échantillons à analyser, et les manipuler conformément aux directives du laboratoire et au paragraphe « Échantillons et contrôles ». Se rappeler que 600 µL d'échantillon sont nécessaires pour l'analyse.
- Décongeler les tubes **HCV CPE** pour la session d'analyse à température ambiante (environ +25 °C). Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
- Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
- Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 1 000 µL (même si 600 µL d'échantillon seront utilisés) et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élué de l'extraction) est de 50 µL.
- Pour chaque Track (Position) d'intérêt, renseigner le « SampleID » (SID) (ID échantillon) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
- Sélectionner le protocole de test (Assay Protocol) à utiliser dans la colonne « Assay » (Analyse) (par ex. HCV ELITe_PL_600_50).
- Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
- Sélectionner la position de chargement de l'échantillon « Extraction Tube » (Tube d'extraction) dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
Pour l'analyse, 600 µL d'échantillon doivent être transférés dans le « Extraction Tube » (Tube d'extraction). Tout volume en excès sera laissé dans le « Extraction Tube » (Tube d'extraction) par le **ELITe InGenius**.
- Charger le **mélange réactionnel complet** et le **HCV CPE** sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) sélectionné en suivant les instructions de la GUI et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HCV PCR Mix** et du **HCV CPE**. Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger et vérifier les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) dans la « Inventory Area » (Zone de stockage) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

- Charger les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR), les cartouches d'extraction **ELITe InGenius SP 1000**, tous les consommables requis et les échantillons à extraire en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

- Fermer le tiroir de l'instrument.

- Appuyer sur « Start » (Début) pour lancer l'analyse.

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

Remarque : à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le « Elution tube » (Tube d'élué) doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 °C pendant un mois. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

Remarque : à la fin de l'analyse, les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR) contenant les produits d'amplification, les cartouches d'extraction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et mis au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter de renverser les produits de la réaction.

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

B. Analyse d'amplification (« PCR Only » [PCR seulement])

Pour paramétrer l'analyse d'amplification à partir d'ARN extrait, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

- Décongeler à température ambiante (environ +25 °C) les tubes à essai contenant les échantillons d'acide nucléique extraits à analyser. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
- Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
- Même si aucune extraction ne sera réalisée, vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 1 000 µL (même si 600 µL d'échantillon ont été utilisés) et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élué de l'extraction) est de 50 µL.
- Pour chaque Track (Position) d'intérêt, renseigner le SID en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
- Sélectionner le protocole de test (Assay Protocol) à utiliser dans la colonne « Assay » (Analyse) (par ex. HCV ELITe_PL_600_50).
- Sélectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).
- Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » [Tube d'élué (ligne du bas)]. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger le **mélange réactionnel complet** sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) sélectionné en suivant les instructions de la GUI et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HCV PCR Mix**. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger et vérifier les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) dans la « Inventory Area » (Zone de stockage) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR) et les échantillons d'acide nucléique extraits en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
- Fermer le tiroir de l'instrument.
- Appuyer sur « Start » (Début) pour lancer l'analyse.

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

Remarque : à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le « Elution tube » (Tube d'éluion) doit être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C pendant un mois. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

Remarque : à la fin de l'analyse, les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR) contenant les produits d'amplification et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et mis au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

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

C. Analyse d'étalonnage

Pour paramétrer l'analyse d'étalonnage avec les étalons Q-PCR Standards, effectuer les étapes suivantes en suivant les instructions de la GUI :

- Décongeler les tubes de **HCV Q-PCR Standard** (Cal1 : HCV Q-PCR Standards 10², Cal2 : HCV Q-PCR Standards 10³, Cal3 : HCV Q-PCR Standards 10⁴, Cal4 : HCV Q-PCR Standards 10⁵) à température ambiante (environ +25 °C) pendant 30 minutes. Chaque tube permet de préparer 4 réactions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
- Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
- Même si aucune extraction ne sera réalisée, vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 1 000 µL (même si 600 µL d'échantillon seront utilisés) et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 50 µL.
- Dans la Track (Position) d'intérêt, sélectionner le protocole de test « HCV ELITe STD » dans la colonne « Assay » (Analyse) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HCV Q-PCR Standard**. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger le **mélange réactionnel complet** sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) sélectionné en suivant les instructions de la GUI et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HCV PCR Mix**. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger et vérifier les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) dans la « Inventory Area » (Zone de stockage) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR) et les tubes **HCV Q-PCR Standard** en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
- Fermer le tiroir de l'instrument.
- Appuyer sur « Start » (Début) pour lancer l'analyse.

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

Remarque : au terme de l'analyse, les **HCV Q-PCR Standards** restants doivent être retirés de l'instrument, bouchés et conservés à -20 °C.

Remarque : les **HCV Q-PCR Standards** peuvent être utilisés pendant 2 sessions de travail indépendantes de 2 heures chacune.

Remarque : à la fin de l'analyse, les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR) contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et mis au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

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

D. Analyse d'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif

Pour paramétrer l'analyse d'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

- Décongeler les tubes **HCV Positive Control** à température ambiante (environ +25 °C) pendant 30 minutes pour la session d'analyse. Chaque tube permet de préparer 4 réactions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
- À titre de **Contrôle négatif**, transférer au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Tube d'éluion » (Elution tube) fourni avec le **ELITe InGenius SP 200 Consumable Set**.
- Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
- Même si aucune extraction ne sera réalisée, vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 1 000 µL (même si 600 µL d'échantillon seront utilisés) et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 50 µL.
- Dans la Track (Position) d'intérêt, sélectionner le protocole de test (Assay Protocol) à utiliser dans la colonne « Assay » (Analyse).
- Pour le Contrôle positif, sélectionner le protocole de test « HCV ELITe_PC » dans la colonne « Assay » (Analyse) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HCV Positive Control**.
- Pour le Contrôle négatif, sélectionner le protocole de test « HCV ELITe_NC » dans la colonne « Assay » (Analyse) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption de l'eau de qualité biologie moléculaire. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger le **mélange réactionnel complet** sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) sélectionné en suivant les instructions de la GUI et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HCV PCR Mix**. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger et vérifier les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) dans la « Inventory Area » (Zone de stockage) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR), le tube **HCV Positive Control** et le tube du **Contrôle négatif** en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
- Fermer le tiroir de l'instrument.
- Appuyer sur « Start » (Début) pour lancer l'analyse.

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

Remarque : au terme de l'analyse, le **HCV Positive Control** restant doit être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C. Le **contrôle négatif** restant doit être mis au rebut.

Remarque : le **HCV Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions de travail indépendantes de 3 heures chacune.

Remarque : au terme de l'analyse, les **PCR Cassettes** (Cassettes de PCR) contenant les produits d'amplification et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et mis au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

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

Examen et approbation des résultats

Le **ELITe InGenius** surveille les signaux de fluorescence des cibles et du contrôle interne pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du protocole de test pour générer des courbes de PCR qui sont ensuite interprétées en résultats.

À la fin de l'analyse, l'écran « Results Display » (Affichage des résultats) s'affiche automatiquement. Dans cet écran, les résultats de l'échantillon/de l'étalon/des contrôles et les informations concernant l'analyse sont affichés. À partir de cet écran, il est possible d'approuver le résultat, d'imprimer ou d'enregistrer les rapports (« Sample Report » [Rapport échantillons] ou « Track Report » [Rapport des positions]). Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Remarque : le système **ELITe InGenius** peut être connecté au « Laboratory Information Server » (serveur de gestion des informations de laboratoire - LIS) par lequel il est possible d'envoyer les résultats de la session de travail au centre de données du laboratoire. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Le système **ELITe InGenius** génère les résultats à l'aide du produit **HCV ELITe MGB Kit** en exécutant la procédure suivante.

A. Validation de la courbe d'étalonnage

Le **ELITe InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour le VHC (Canal « HCV ») des réactions des calibrateurs avec les paramètres du protocole de test « **HCV ELITe_STD** ». Les valeurs Ct versus la concentration génèrent la courbe d'étalonnage.

Les courbes d'étalonnage, spécifiques à un lot de réactifs de PCR, sont enregistrées dans la base de données (Calibration [Étalonnage]). Ils peuvent être visualisés et approuvés par du personnel qualifié disposant des privilèges « Administrator » (Administrateur) ou « Analyst » (Analyste), en suivant les instructions de la GUI. Les courbes d'étalonnage expirent **au bout de 60 jours**.

Avant d'analyser des échantillons, une courbe d'étalonnage doit être générée et approuvée pour le lot de réactifs de PCR utilisé. Les courbes d'étalonnages dont le statut est « Approved » (Approuvé) sont affichées dans la fenêtre « Calibration » (Étalonnage) du **ELITe InGenius Software**.

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

Remarque : si la courbe d'étalonnage est analysée avec des échantillons et que son résultat est non valide, l'intégralité de la session d'analyse est non valide. Dans ce cas, l'amplification de tous les échantillons doit être également répétée.

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

Les signaux de fluorescence émis par la sonde pour le VHC (Canal « HCV ») dans les réactions d'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans les protocoles de test « **HCV ELITe_PC** » et « **HCV ELITe_NC** ».

Les résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif, spécifiques au lot de réactifs de PCR, sont enregistrés dans la base de données (Controls [Contrôles]). Ils peuvent être visualisés et approuvés par du personnel qualifié disposant des privilèges « Administrator » (Administrateur) ou « Analyst » (Analyste), en suivant les instructions de la GUI. Les résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif expirent au bout de 15 jours.

Le **ELITe InGenius Software** traite les résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif et génère les « Control Charts » (Graphiques de contrôle). Quatre résultats de Contrôle positif et de Contrôle négatif, provenant de quatre analyses différentes, sont nécessaires pour configurer le « Control Chart » (Graphique de contrôle). Ensuite, les résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif sont utilisés pour surveiller les performances de l'étape d'amplification. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

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

Remarque : si un Contrôle positif ou un Contrôle négatif est analysé avec des échantillons à tester et que son résultat est non valide, les échantillons peuvent être approuvés mais les résultats ne sont pas validés. Dans ce cas, l'amplification de tous les échantillons doit être également répétée.

C. Validation des résultats de l'échantillon

Les signaux de fluorescence émis par les sondes pour le VHC (Canal « HCV ») et par la sonde du contrôle interne (Canal « IC ») dans les réactions d'amplification de l'échantillon sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans les protocoles de test « **HCV ELITe_PL_600_50** » et « **HCV ELITe_Se_600_50** ». Les résultats sont présentés dans le module « Result Display » (Affichage des résultats).

L'analyse de l'échantillon peut être approuvée lorsque les trois conditions indiquées dans le tableau ci-dessous sont satisfaites.

| | |
|-------------------------------|---------------|
| 1) Courbe d'étalonnage | Statut |
| HCV Q-PCR Standards | APPROUVÉ |
| 2) Contrôle positif | Statut |
| HCV Positive Control | APPROUVÉ |
| 3) Contrôle négatif | Statut |
| HCV Negative Control | APPROUVÉ |

Les résultats des échantillons sont automatiquement interprétés par l'algorithme du **ELITe InGenius Software** et les paramètres du protocole de test.

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

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

Les échantillons rapportés comme « Invalid - Retest Sample » (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon) ne sont pas appropriés pour l'interprétation des résultats. Dans ce cas, l'ARN du contrôle interne n'a pas été efficacement détecté en raison de problèmes lors de l'étape de transcription inverse-amplification ou d'extraction (dégradation ou perte d'ARN pendant l'extraction ou contamination par des inhibiteurs dans l'éluat), ce qui peut générer des résultats incorrects. S'il reste un volume d'éluat suffisant, l'éluat peut être à nouveau testé (pur ou dilué), par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR seulement). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'un nouvel échantillon en utilisant le mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR)

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

Les échantillons rapportés comme « HCV: RNA Detected, quantity below LLoQ » (VHC : ARN détecté, quantité inférieure à la LLoQ) ne sont pas appropriés pour une quantification. La concentration de l'ARN du HCV détecté dans l'échantillon est inférieure au niveau auquel il peut être précisément quantifié. Si l'échantillon a été dilué avant l'extraction ou la PCR, il peut être à nouveau testé sans dilution (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

Les échantillons rapportés comme « RNA Detected, quantity beyond ULoQ » (ARN détecté, quantité supérieure à la ULoQ) ne sont pas appropriés pour une quantification. La concentration de l'ARN du HCV détecté dans l'échantillon est supérieure au niveau auquel il peut être précisément quantifié. L'échantillon peut être dilué avant l'extraction ou la PCR pour être testé à nouveau afin de générer des résultats compris dans la plage linéaire du test.

Remarque : Les résultats obtenus avec ce test doivent être interprétés en tenant compte de l'ensemble des données cliniques et des autres résultats d'analyse de laboratoire du patient.

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

Rapport des résultats de l'échantillon

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

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

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

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

ELITe BeGenius

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

Ce produit doit être utilisé avec les échantillons cliniques suivants :

Plasma prélevé sur EDTA ou ACD

Les échantillons de plasma pour l'extraction des acides nucléiques doivent être prélevés sur EDTA ou ACD et identifiés conformément aux directives du laboratoire, et doivent être transportés et conservés à température ambiante (+18/environ +25 °C) pendant trois jours au maximum ou entre +2 et +8 °C pendant cinq jours au maximum. Sinon, ils doivent être congelés et conservés à environ -20 °C pendant un mois au maximum ou à environ -70 °C pendant 6 mois.

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

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Remarque : l'extraction d'ARN à partir de plasma prélevé sur EDTA ou ACD est effectuée à l'aide du système **ELITe BeGenius** et du **ELITe BeGenius Software** version 2.1.0 (ou versions ultérieures équivalentes) en utilisant le protocole de test **HCV ELITe_Be_PL_600_50**. Ce protocole comprend le traitement de 600 µL d'échantillon, l'ajout du **HCV CPE** (contrôle interne) à 10 µL par extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 50 µL.

Les acides nucléiques purifiés peuvent être conservés à environ -20 °C pendant un mois.

Sérum

Les échantillons de sérum destinés à l'extraction de l'ARN doivent être prélevés et identifiés conformément aux directives du laboratoire, et doivent être transportés et conservés à température ambiante (environ +25 °C) pendant trois jours au maximum ou entre +2 et +8 °C pendant cinq jours au maximum. Sinon, ils doivent être congelés et conservés à environ -20 °C pendant un mois au maximum ou à environ -70 °C pendant 6 mois.

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

Remarque : l'extraction d'ARN à partir de sérum est effectuée à l'aide du système **ELITe BeGenius** et du **ELITe BeGenius Software** version 2.1.0 (ou versions ultérieures équivalentes) en utilisant le protocole de test **HCV ELITe_Be_Se_600_50**. Ce protocole comprend le traitement de 600 µL d'échantillon, l'ajout du **HCV CPE** (contrôle interne) à 10 µL par extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 50 µL. Le tube primaire ne peut pas être utilisé en association avec le protocole de test.

Les acides nucléiques purifiés peuvent être conservés à -20 °C pendant un mois.

Autres échantillons

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

Substances interférentes

Les données disponibles concernant l'inhibition provoquée par les médicaments et d'autres substances sont fournies au paragraphe « Substances potentiellement interférentes » de la section « Caractéristiques de performance ».

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

Contrôles d'amplification

Avant d'analyser un échantillon, il est indispensable de générer et d'approuver la courbe d'étalonnage et les contrôles d'amplification pour chaque lot de réactifs d'amplification :

- à titre de jeu de calibrateurs, utiliser les quatre niveaux de concentration du produit **HCV ELITe Standard** inclus dans ce kit, en association avec le protocole de test **HCV ELITe_Be_STD**,
- à titre de Contrôle positif d'amplification, utiliser le produit **HCV - ELITe Positive Control** inclus dans ce kit, en association avec le protocole de test (Assay Protocol) **HCV ELITe_Be_PC**,
- à titre de Contrôle négatif d'amplification, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) en association avec le protocole de test (Assay Protocol) **HCV ELITe_Be_NC**.

Remarque : le système **ELITe BeGenius** exige que les résultats de la courbe d'étalonnage et des contrôles d'amplification soient approuvés et valides pour chaque lot de réactifs d'amplification stocké dans sa base de données.

Les courbes d'étalonnage, approuvées et stockées dans la base de données, expirent au bout de **60 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser les étalons Q-PCR Standards en association avec le lot de réactifs d'amplification.

Les résultats des contrôles d'amplification, approuvés et stockés dans la base de données, expirent au bout de **15 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser les Contrôles positif et négatif en association avec le lot du réactif d'amplification.

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

En outre, les calibrateurs et les contrôles d'amplification doivent être réanalysés lorsque :

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

Contrôles de qualité

Il est recommandé de planifier la validation de la procédure d'extraction et d'amplification. À cette fin, il est possible d'utiliser les échantillons testés ou un matériel de référence certifié. Les contrôles externes doivent être utilisés conformément aux exigences des organismes d'accréditation locaux, régionaux et nationaux en vigueur.

PROCÉDURE

L'utilisation du **HCV ELITe MGB Kit** avec le **ELITe BeGenius** comprend trois étapes :

- Vérification de la préparation du système,
- Paramétrage de la session d'analyse,
- Examen et exportation des résultats.

Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse, en se référant à la documentation de l'instrument, il est nécessaire de :

- mettre le **ELITe BeGenius** en marche et sélectionner le mode de connexion « **CLOSED** » (FERMÉ) ;
- vérifier que les calibrateurs (**HCV Q-PCR Standard**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **HCV PCR Mix** à utiliser. Si aucun calibrateur n'est disponible pour le lot de **HCV PCR Mix**, effectuer une calibration comme décrit ci-dessous,
- vérifier que les contrôles d'amplification (**HCV Positive Control**, **HCV Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **HCV PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle d'amplification valide n'est disponible pour le lot de **HCV PCR Mix**, analyser les contrôles comme décrit ci-dessous, choisir le type d'analyse, suivre les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et utiliser les protocoles de test fournis par ELITechGroup S.p.A. Ces protocoles de DIV ont été spécifiquement validés avec les **ELITe MGB Kits** et l'instrument **ELITe BeGenius** et la matrice indiquée.
- Les protocoles de test disponibles pour tester des échantillons à l'aide du produit **HCV ELITe MGB Kit** sont décrits dans le tableau ci-dessous :

| Protocoles de test pour le HCV ELITe MGB Kit avec le ELITe BeGenius | | | |
|---|---------|---|--|
| Nom | Matrice | Rapport | Caractéristiques |
| HCV ELITe_Be_PL_600_50 | Plasma | Positif/UI/mL/ copies/mL/ Négatif | Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL |
| VHC ELITe_Be_Se_600_50 | Sérum | Positif/UI/mL/ copies/mL/ Négatif | Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL |

UI, unités internationales

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

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

Paramétrage de la session d'analyse

Le produit **HCV ELITe MGB Kit** peut être utilisé avec le **ELITe BeGenius** pour les opérations suivantes :

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

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

Remarque : le système **ELITe BeGenius** peut être connecté au « Location Information Server » (serveur d'informations de localisation - LIS) qui permet de charger les informations relatives à la session d'analyse. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

Avant de commencer la session d'analyse, il est absolument indispensable de procéder comme suit :

- Décongeler les tubes de **HCV PCR Mix** (capuchon BLANC) nécessaires à température ambiante (environ +25 °C) pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer **24** réactions dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Agiter les tubes au vortex à trois reprises pendant 10 secondes, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes dans de la glace,

Remarque : décongeler le **HCV PCR Mix** dans l'obscurité car ce réactif est sensible à la lumière.

- Sortir les tubes de **RT EnzymeMix** (capuchon avec un insert NOIR) nécessaires. Chaque tube permet de paramétrer **48 tests**. Agiter délicatement les tubes, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes dans de la glace,

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

- Préparer un tube à capuchon vissant de 2 mL (Sarstedt réf. 72.694.005, non inclus dans le kit) pour le **mélange réactionnel complet** et le marquer de manière reconnaissable avec un marqueur permanent,
- Calculer les volumes des deux sous-composants qui sont nécessaires à la préparation du **mélange réactionnel complet** sur la base du nombre d'échantillons à analyser, comme décrit dans le tableau suivant.

Remarque : pour calculer les volumes des deux sous-composants à utiliser pour la préparation du **mélange réactionnel complet**, il est nécessaire de définir le nombre d'échantillons (N) à tester au cours de la session d'analyse et de suivre le tableau ci-dessous.

| Nombre d'échantillons (N) | HCV 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 |

- Préparer le **mélange réactionnel complet** en ajoutant les volumes calculés des deux composants au tube de 2 mL dédié.

Remarque : pour plus de 12 échantillons :

- préparer un premier tube de 2 mL avec le **mélange réactionnel complet** pour 12 échantillons ;
- préparer un deuxième tube de 2 mL avec le **mélange réactionnel complet** en calculant les volumes des deux sous-composants sur la base du nombre d'échantillons restants (N-12).

6. Agiter **au vortex à basse vitesse** à trois reprises pendant 10 secondes, centrifuger pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver le tube sur de la glace.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** doit être utilisé dans les 7 heures s'il est conservé dans le bloc réfrigéré. Le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être conservé pour être réutilisé.

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

Les principales étapes du paramétrage des trois types d'analyse sont décrites dans les paragraphes suivants.

A. Analyse intégrée

Pour paramétrer une analyse intégrée avec une extraction et une amplification d'échantillon, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler à température ambiante (+18/25 °C) les tubes à essai contenant les échantillons à analyser, et les manipuler conformément aux directives du laboratoire et au paragraphe « Échantillons et contrôles » ;
Se rappeler que 600 µL d'échantillon sont nécessaires pour l'analyse.
2. Décongeler les tubes **HCV CPE** à température ambiante (~+25 °C) pendant 30 minutes pour la session d'analyse. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
3. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
4. Retirer les Racks de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
5. Sélectionner le « run mode » (mode d'analyse) : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
6. Charger les échantillons dans les Racks 5 et 4 (toujours commencer par le Rack 5).
7. Insérer le Rack dans la « Cooler Unit ». Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.

Remarque : si des tubes secondaires sont chargés, les marquer « Tube de 2 mL ». Si les tubes secondaires ne portent pas de codes-barres, saisir manuellement l'ID de l'échantillon.

8. Vérifier le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) (600 µL) et le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) (50 µL).
9. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Analyse) (c'est-à-dire HCV ELITE_Be_PL_600_50). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
10. S'il est utilisé, répéter les étapes 7 à 9 pour le Rack 4.
11. Charger les tubes d'élution dans les Racks 3 et 2 (toujours commencer par le Rack 3).

Remarque : les tubes d'élution peuvent être étiquetés pour améliorer la traçabilité.

12. Insérer le Rack dans la « Cooler Unit ». Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
13. S'il est utilisé, répéter les étapes 11 et 12 pour le Rack 2.
14. Charger le **CPE** et le **mélange réactionnel complet** dans le Rack 1.
15. Insérer le Rack 1 dans la « Cooler Unit ». Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.

16. Charger et vérifier les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
17. Charger le panier avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
18. Charger le panier avec les cartouches d'extraction « ELITE InGenius SP 1000 » et les consommables d'extraction requis en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
19. Fermer le tiroir de l'instrument.
20. Appuyer sur « Start » (Début) pour lancer l'analyse.

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

Remarque : à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant peut être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 °C. Éviter tout déversement de l'échantillon extrait.

Remarque : à la fin de l'analyse, la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et éliminés en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans la « Cooler Unit » de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

B. Analyse d'amplification

Pour paramétrer l'analyse d'amplification à partir d'ARN extrait, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler à température ambiante (environ +25 °C) les tubes à essai contenant les échantillons d'acide nucléique extraits à analyser. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
2. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3. Retirer les Racks 1, 2 et 3 de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
4. Sélectionner le « run mode » (mode d'analyse) : « PCR Only » (PCR seulement).
5. Charger les échantillons dans les Racks 3 et 2 (toujours commencer par le Rack 3).
6. Insérer le Rack dans la « Cooler Unit ». Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
7. Même si aucune extraction n'est réalisée, vérifier le Extraction Input Volume (Volume d'extraction) (600 µL) et le Extracted Elute Volume (Volume d'élution de l'extraction) (50 µL).
8. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Analyse) (par ex. HCV ELITE_Be_PL_600_50). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
9. S'il est utilisé, répéter les étapes 5 à 8 pour le Rack 2.
10. Charger le **mélange réactionnel complet** dans le Rack 1.
11. Insérer le Rack 1 dans la « Cooler Unit ». Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
12. Charger et vérifier les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.

13. Charger le panier avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.

14. Fermer le tiroir de l'instrument.

15. Appuyer sur « Start » (Début) pour lancer l'analyse.

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

Remarque : à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant peut être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 °C. Éviter tout déversement de l'échantillon extrait.

Remarque : à la fin de l'analyse, la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) contenant les produits de réaction doit être retirée de l'instrument et éliminée en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans la « Cooler Unit » de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

C. Analyse d'étalonnage

Pour paramétrer l'analyse d'étalonnage avec les étalons Q-PCR Standards, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

- Décongeler les tubes de **HCV Q-PCR Standard** (Cal1 : HCV Q-PCR Standards 10², Cal2 : HCV Q-PCR Standards 10³, Cal3 : HCV Q-PCR Standards 10⁴, Cal4 : HCV Q-PCR Standards 10⁵) à température ambiante (environ +25 °C) pendant 30 minutes. Chaque tube permet de préparer 2 réactions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
- Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
- Retirer les Racks 1, 2 et 3 de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
- Sélectionner le « run mode » (mode d'analyse) : « PCR Only » (PCR seulement).
- Charger les tubes de calibrateur dans le Rack 3.
- Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Analyse) (HCV ELITe_Be_STD). Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger le **mélange réactionnel complet** dans le Rack 2.
- Insérer le Rack 2 dans la « Cooler Unit ». Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger et vérifier les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger le panier avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Fermer le tiroir de l'instrument.
- Appuyer sur « Start » (Début) pour lancer l'analyse.

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

Remarque : à la fin de l'analyse, les calibrateurs restants peuvent être retirés de l'instrument, bouchés et conservés à -20 °C. Éviter tout déversement des étalons Q-PCR Standards.

Remarque : les **HCV Q-PCR Standards** peuvent être utilisés pendant 2 sessions de travail indépendantes de 2 heures chacune.

Remarque : à la fin de l'analyse, la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) contenant les produits de réaction doit être retirée de l'instrument et mise au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

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

D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif

Pour paramétrer l'analyse d'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

- Décongeler les tubes **HCV Positive Control** à température ambiante (environ +25 °C) pendant 30 minutes pour la session d'analyse. Chaque tube permet de préparer 4 réactions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
- Transférer au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire (à titre de Contrôle négatif) pour les sessions d'analyse dans un (1) « Elution tube » (Tube d'éluion) fourni dans le kit de consommables ELITe InGenius SP Consumable Set.
- Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
- Retirer les Racks 1, 2 et 3 de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
- Sélectionner le « run mode » (mode d'analyse) : « PCR Only » (PCR seulement).
- Charger les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif dans le Rack 3.
- Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Analyse) (HCV ELITe_Be_PC et HCV ELITe_Be_NC). Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger le **mélange réactionnel complet** dans le Rack 2.
- Insérer le Rack 2 dans la « Cooler Unit ». Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger et vérifier les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger le panier avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Fermer le tiroir de l'instrument.
- Appuyer sur « Start » (Début) pour lancer l'analyse.

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

Remarque : à la fin de l'analyse, le Contrôle positif restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C. Éviter tout déversement des Contrôles positifs. Le Contrôle négatif restant doit être jeté.

Remarque : le **HCV Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions de travail indépendantes de 3 heures chacune.

Remarque : à la fin de l'analyse, les « PCR Cassettes » (Cassettes de PCR) contenant les produits de réaction doivent être retirées de l'instrument et mises au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

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

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

Examen et approbation des résultats

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

À la fin de l'analyse, l'écran « Results Display » (Affichage des résultats) s'affiche automatiquement. Dans cet écran, les résultats de l'échantillon/du calibrateur/des contrôles et les informations concernant l'analyse sont affichés. À partir de cet écran, il est possible d'approuver le résultat, d'imprimer ou d'enregistrer les rapports (« Sample Report » [Rapport échantillons] ou « Track Report » [Rapport des positions]). Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

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

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

Remarque : pour connaître les détails pour ce système, se reporter aux sections correspondantes relatives au **ELITe InGenius**.

**CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE DES
ELITe InGenius et ELITe BeGenius**

Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du produit HCV ELITe MGB Kit a été définie en association avec des échantillons de plasma et le système ELITe InGenius.

La LoD a été définie en testant un panel d'échantillons de plasma prélevé sur ACD négatifs pour le VHC qui ont été dopés avec un matériel de référence certifié du VHC (6^e étalon international de l'OMS, NIBSC) dont le titre était connu. Six niveaux de dilutions ont été préparés, de 100 UI/mL à 6 UI/mL. Chaque niveau de dilution a été traité en 24 réplicats sur le système ELITe InGenius en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR). La LoD a été estimée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 % par une analyse de régression des probits des données.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| Limite de détection (UI/mL) pour des échantillons de plasma prélevé sur ACD avec le ELITe InGenius | | | |
|---|-----|--------------------------------|-------------------|
| Cible | LoD | Intervalle de confiance à 95 % | |
| | | Limite inférieure | Limite supérieure |
| VHC | 26 | 19 | 48 |

La LoD, exprimée en copies/mL pour le plasma prélevé sur ACD, a été calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique (2,4 UI/copie). La sensibilité analytique, en copies/mL, est indiquée ci-dessous.

| Limite de détection (copies/mL) pour des échantillons de plasma prélevé sur ACD avec le ELITe InGenius | | | |
|---|-----|--------------------------------|-------------------|
| Cible | LoD | Intervalle de confiance à 95 % | |
| | | Limite inférieure | Limite supérieure |
| VHC | 11 | 8 | 20 |

La valeur de la LoD calculée a été vérifiée en testant 30 réplicats d'échantillons de plasma prélevé sur ACD, 30 réplicats d'échantillons de plasma prélevé sur EDTA et 30 réplicats d'échantillons de sérum qui avaient été dopés avec un matériel de référence certifié du VHC (6^e étalon international de l'OMS, NIBSC) à la concentration revendiquée. La LoD était confirmée si au moins 27 des 30 réplicats généraient un résultat positif conformément à la norme EP17-A du CLSI.

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| Vérification de la limite de détection pour des échantillons de plasma et de sérum avec le ELITe InGenius | | | | | |
|--|----------|-------|----|----------|----------|
| Échantillon | Titre | Cible | N | Positifs | Négatifs |
| Plasma prélevé sur ACD | 26 UI/mL | VHC | 30 | 29 | 1 |
| Plasma prélevé sur EDTA | 26 UI/mL | VHC | 30 | 27 | 3 |
| Sérum | 26 UI/mL | VHC | 30 | 27 | 3 |

La valeur de la LoD pour la cible VHC a été confirmée à 26 UI/mL pour le plasma prélevé sur ACD, le plasma prélevé sur EDTA et le sérum.

La valeur de la LoD calculée a été vérifiée en association avec le **ELITe BeGenius** en testant 30 réplicats d'échantillons de plasma prélevé sur ACD, 30 réplicats d'échantillons de plasma prélevé sur EDTA et 30 réplicats d'échantillons de sérum dopés avec un matériel de référence certifié du VHC (6^e étalon international de l'OMS, NIBSC) à la concentration revendiquée. La LoD était confirmée si au moins 27 des 30 réplicats généraient un résultat positif conformément à K. Linnet et al. 2004.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| Vérification de la limite de détection pour le plasma et le sérum avec le ELITe BeGenius | | | | | |
|---|----------|-------|----|----------|----------|
| Échantillon | Titre | Cible | N | Positifs | Négatifs |
| Plasma prélevé sur EDTA | 26 UI/mL | VHC | 30 | 30 | 0 |
| Plasma prélevé sur ACD | 26 UI/mL | VHC | 30 | 27 | 3 |
| Sérum | 26 UI/mL | VHC | 30 | 27 | 3 |

La valeur de la LoD pour la cible VHC a été confirmée à 26 UI/mL pour le plasma prélevé sur ACD, le plasma prélevé sur EDTA et le sérum.

Équivalence des matrices : plasma EDTA versus plasma ACD et sérum

L'équivalence des performances du HCV ELITe MGB Kit a été vérifiée en utilisant des échantillons de plasma prélevé sur ACD, des échantillons de plasma prélevé sur EDTA et des échantillons de sérum en association avec le système ELITe InGenius.

Un test a été effectué sur 30 échantillons de plasma prélevé sur EDTA et 30 échantillons de plasma prélevé sur ACD provenant des mêmes 30 donneurs différents (échantillons appariés), testés négatifs pour le VHC par un dosage immunologique portant le marquage CE DIV. Les échantillons ont été testés sur le système ELITe InGenius en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR). Le pourcentage de concordance négative a été évalué. Le pourcentage du coefficient de variation (% CV) des valeurs Ct du contrôle interne a été calculé afin d'évaluer l'équivalence des deux matrices.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| Échantillon | N | Positifs | Négatifs | % de concordance négative | % CV Ct du Contrôle Interne | % CV Ct globale du Contrôle Interne |
|-------------------------|----|----------|----------|---------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| Plasma prélevé sur EDTA | 30 | 0 | 30 | 100 % | 0,89 | 0,95 |
| Plasma prélevé sur ACD | 30 | 0 | 30 | | 1,02 | |

Le même test a été effectué sur 30 échantillons de plasma prélevé sur EDTA et 30 échantillons de sérum provenant des mêmes 30 donneurs différents (échantillons appariés), testés négatifs pour le VHC par un dosage immunologique portant le marquage CE DIV.

HCV ELITE MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| Échantillon | N | Positifs | Négatifs | % de concordance négative | % CV Ct du Contrôle Interne | % CV Ct globale du Contrôle Interne |
|-------------------------|----|----------|----------|---------------------------|-----------------------------|-------------------------------------|
| Plasma prélevé sur EDTA | 30 | 0 | 30 | 100 % | 0,90 | 1,11 |
| Sérum | 30 | 0 | 30 | | 1,28 | |

Un test a été effectué sur 30 échantillons de plasma prélevé sur EDTA et 30 échantillons de plasma prélevé sur ACD provenant des mêmes 30 donneurs différents (échantillons appariés), testés négatifs pour le VHC par un dosage immunologique portant le marquage CE DIV et dopés avec un matériel de référence certifié (6^e étalon international pour le VHC de l'OMS, NIBSC) à une concentration de 3 x la LoD (environ 78 UI/mL). Les échantillons ont été testés sur le système ELITE InGenius en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR). Le pourcentage de concordance positive a été évalué. Le pourcentage du coefficient de variation (% CV) des valeurs Ct de la cible VHC a été calculé afin d'évaluer l'équivalence des deux matrices. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| Échantillon | N | Positifs | Négatifs | % de concordance positive | % CV Ct du VHC | % CV Ct globale du VHC | Biais (Log UI/mL) |
|-------------------------|----|----------|----------|---------------------------|----------------|------------------------|-------------------|
| Plasma prélevé sur EDTA | 30 | 30 | 0 | 100 % | 1,96 | 1,79 | 0,0190 |
| Plasma prélevé sur ACD | 30 | 30 | 0 | | 1,60 | | |

Le même test a été effectué sur 30 échantillons de plasma prélevé sur EDTA et 30 échantillons de sérum provenant des mêmes 30 donneurs différents (échantillons appariés), testés négatifs pour le VHC par un dosage immunologique portant le marquage CE DIV et dopés avec un matériel de référence certifié (6^e étalon international pour le VHC de l'OMS, NIBSC) à une concentration de 3 x la LoD (environ 78 UI/mL). Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| Échantillon | N | Positifs | Négatifs | % de concordance positive | % CV Ct du VHC | % CV Ct globale du VHC | Biais (Log UI/mL) |
|-------------------------|----|----------|----------|---------------------------|----------------|------------------------|-------------------|
| Plasma prélevé sur EDTA | 30 | 30 | 0 | 100 % | 1,84 | 1,81 | 0,0636 |
| Sérum | 30 | 30 | 0 | | 1,77 | | |

Dans ces tests, les 30 échantillons de plasma prélevé sur EDTA et échantillons de plasma prélevé sur ACD appariés, et les 30 échantillons de plasma prélevé sur EDTA et échantillons de sérum appariés montraient des performances équivalentes lorsqu'ils étaient analysés à l'aide du HCV ELITE MGB Kit en association avec le système ELITE InGenius.

Des tests supplémentaires sur l'équivalence des matrices ont été effectués pendant l'étude de la plage de mesure linéaire.

Plage de mesure linéaire

La plage de mesure linéaire du HCV ELITE MGB Kit a été déterminée en association avec des échantillons de plasma et le système ELITE InGenius.

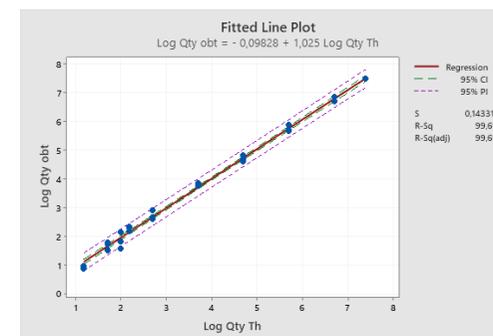
La plage de mesure linéaire a été déterminée en utilisant un panel de matériel de référence du VHC dont le titre était connu (AcroMetrix™ HCV-S Panel) dans des échantillons de plasma prélevé sur EDTA. Le panel consistait en dix points de dilution à partir d'environ 2,5 x 10⁷ UI/mL jusqu'à 1,5 x 10¹ UI/mL. Chaque échantillon du panel a été testé en 3 réplicats sur le système **ELITE InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

L'analyse des données obtenues, utilisant une régression polynomiale et une régression linéaire, a démontré que le test présentait une réponse linéaire pour toutes les dilutions avec un coefficient de corrélation R-carré (R²) de 0,996.

HCV ELITE MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



La limite inférieure de quantification (LLOQ) a été définie à la concentration de la LoD qui génère des résultats quantitatifs précis (écart-type = 0,2787 Log UI/mL) et exacts (biais = 0,3641 Log UI/mL) à ± 0,5 Log UI/mL : 26 UI/mL.

La limite supérieure de quantification (ULOQ) a été définie à la concentration la plus élevée qui génère des résultats quantitatifs précis (écart-type = 0,0089 Log UI/mL) et exacts (biais = 0,0794 Log UI/mL) à ± 0,5 Log UI/mL : 25 000 001 UI/mL.

La plage de mesure linéaire, exprimée en copie/mL pour le plasma EDTA, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique (2,4 UI/copie).

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

| Plage de mesure linéaire pour les échantillons de plasma avec le ELITE InGenius | |
|---|----------------------|
| Limite inférieure | Limite supérieure |
| 26 UI/mL | 25 000 001 UI/mL |
| 11 copies/mL | 10 416 667 copies/mL |

Remarque : il a été démontré que les performances du produit en association avec le plasma EDTA, le plasma ACD et le sérum étaient équivalentes.

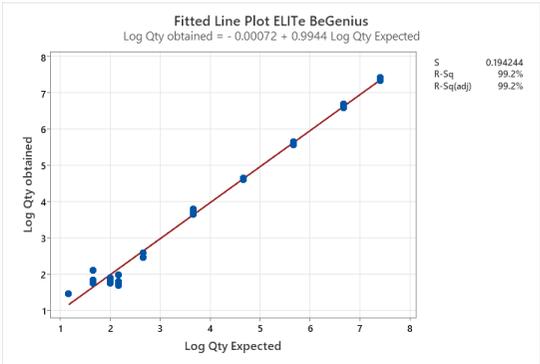
La plage de mesure linéaire du HCV ELITE MGB Kit a été vérifiée en association avec des échantillons de plasma et le système **ELITE BeGenius** en utilisant un panel de dilutions du VHC (AcroMetrix™ HCV-S Panel AcroMetrix) dans des échantillons de plasma prélevé sur ACD négatifs pour le VHC. Le panel consistait en dix points de dilution à partir d'environ 2,5 x 10⁷ UI/mL jusqu'à 15 UI/mL. Chaque échantillon du panel a été testé en 3 réplicats sur le système **ELITE BeGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

L'analyse des données obtenues, utilisant une régression polynomiale et une régression linéaire, a démontré que le test présentait une réponse linéaire pour toutes les dilutions avec un coefficient de corrélation R-carré (R²) de 0,992.

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



La limite inférieure de quantification (LLOQ) a été définie à la concentration de la LoD qui génère des résultats quantitatifs précis (écart-type = 0,3762 Log UI/mL) et exacts (biais = 0,3583 Log UI/mL) à ± 0,5 Log UI/mL : 26 UI/mL.

La limite supérieure de quantification (ULOQ) a été définie à la concentration la plus élevée qui génère des résultats quantitatifs précis (écart-type = 0,0405 Log UI/mL) et exacts (biais = 0,0064 Log UI/mL) à ± 0,5 Log UI/mL : 2,5 x 10⁷ UI/mL.

La plage de mesure linéaire, exprimée en copie/mL pour le plasma ACD, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique (2,4 UI/copie).

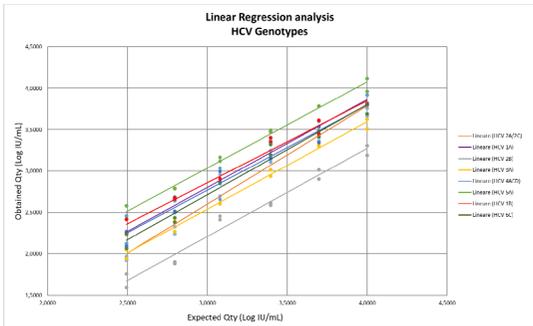
Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

| Plage de mesure linéaire pour les échantillons de plasma avec le ELITe BeGenius | |
|---|----------------------|
| Limite inférieure | Limite supérieure |
| 26 UI/mL | 25 000 001 UI/mL |
| 11 copies/mL | 10 416 667 copies/mL |

Remarque : il a été démontré que les performances du produit en association avec le plasma EDTA, le plasma ACD et le sérum étaient équivalentes.

La linéarité de la quantification a été vérifiée par une analyse d'échantillons de plasma négatifs prélevés sur EDTA et dopés avec un matériel de référence du VHC (SeraCare) pour les principaux génotypes du VHC (1, 2, 3, 4, 5, 6). Chaque génotype du VHC a été testé dans un panel de 6 niveaux de dilution. Chaque niveau de dilution a été testé en 2 réplicats sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



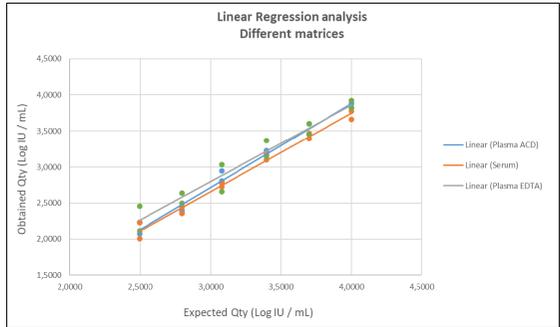
HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

La linéarité du test a été confirmée pour les principaux génotypes du VHC (1, 2, 3, 4, 5, 6) : la valeur R² était comprise entre 0,950 et 0,992 et les résultats quantitatifs sont compris à ± 0,5 log UI/mL, à l'exception du génotype 2b du VHC qui était sous-estimé d'environ 0,8 log/UI/mL par comparaison à la valeur théorique. En revanche, cet échantillon a également été sous-estimé par le test « cobas® HCV for use on the 6800 Systems » (Roche Diagnostics).

La linéarité de la quantification a été vérifiée par une analyse d'échantillons de plasma prélevés sur ACD et d'échantillons de sérum négatifs, qui ont été dopés avec un matériel de référence pour le VHC de l'OMS (NIBSC). Chaque matrice a été testée dans un panel de 6 niveaux de dilution. Chaque niveau de dilution a été testé en 2 réplicats sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR). Les résultats correspondants du test avec des échantillons de plasma prélevé sur EDTA ont été rapportés à titre de référence.

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



La linéarité du test a été confirmée pour les échantillons de plasma prélevés sur ACD et les échantillons de sérum en générant une valeur R² de 0,9838 et 0,9870 respectivement, les résultats quantitatifs étant compris à ± 0,5 log UI/mL.

Inclusivité : efficacité de détection et de quantification de différents génotypes

L'efficacité de détection de différents génotypes du VHC a été évaluée par une comparaison *in silico* des séquences disponibles dans les bases de données de nucléotides.

L'analyse des régions choisies pour l'hybridation des amorces et de la sonde dans l'alignement des séquences de la région UTR 5' du VHC disponibles dans la base de données a montré leur conservation et une absence de mésappariements significatifs dans les génotypes du VHC (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8). On s'attend donc à une amplification et une détection efficaces de tous les génotypes du VHC.

L'inclusivité du test, en ce qui concerne l'efficacité de détection et de quantification de différents génotypes, a été vérifiée en testant trois panels de matériel de référence :

- « AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel » (Seracare), un panel de validation à 8 éléments issu d'une collection diverse de génotypes du VHC 1, 2, 3, 4, 5 et 6.
- « HCV Genotype Evaluation Panel 01 » (Qnostics).
- « Non WHO Reference Material 4th HCV RNA Genotype Panel for Nucleic Acid Amplification Techniques » (NIBSC).

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Chaque échantillon du panel a été dilué à la concentration de 3 x la LoD (environ 78 UI/mL) dans les échantillons de plasma prélevé sur ACD négatifs et a été testé sur le système ELITe InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel | | | | |
|---|------------------|-----------|----------|---------------|
| Génotype | UI/mL théoriques | Pos./rép. | Ct moyen | Moyenne UI/mL |
| VHC 1A | 78 | 3/3 | 37,16 | 74 |
| VHC 1B | 78 | 3/3 | 37,74 | 48 |
| VHC 2A/2C | 78 | 3/3 | 37,64 | 56 |
| VHC 2B | 78 | 3/3 | 38,14 | 36 |
| VHC 3A | 78 | 3/3 | 39,70 | 14 |
| VHC 4ACD | 78 | 3/3 | 38,18 | 38 |
| VHC 5A | 78 | 3/3 | 37,20 | 67 |
| VHC 6C | 78 | 3/3 | 38,07 | 39 |

| HCV Genotype Evaluation Panel | | | | |
|-------------------------------|------------------|-----------|----------|---------------|
| Génotype | UI/mL théoriques | Pos./rép. | Ct moyen | Moyenne UI/mL |
| VHC 1a | 78 | 3/3 | 36,22 | 133 |
| VHC 1b | 78 | 3/3 | 34,11 | 615 |
| VHC 2b | 78 | 3/3 | 38,24 | 33 |
| VHC 3a | 78 | 3/3 | 35,46 | 225 |
| VHC 4a | 78 | 3/3 | 36,09 | 144 |
| VHC 5a | 78 | 3/3 | 37,22 | 69 |
| VHC 6a | 78 | 3/3 | 37,56 | 56 |

| Non WHO Reference Material 4th HCV RNA Genotype Panel | | | | |
|---|------------------|-----------|----------|---------------|
| Génotype | UI/mL théoriques | Pos./rép. | Ct moyen | Moyenne UI/mL |
| VHC 1a | 78 | 3/3 | 38,27 | 40 |
| VHC 1b | 78 | 3/3 | 37,12 | 160 |
| VHC 2i | 78 | 3/3 | 38,01 | 71 |
| VHC 3a | 78 | 3/3 | 39,49 | 19 |
| VHC 4r | 78 | 3/3 | 40,08 | 18 |
| VHC 5a | 78 | 3/3 | 38,92 | 39 |
| VHC 6i | 78 | 2/3 | 38,24 | 8 |

Tous les échantillons des trois panels ont été correctement détectés. Dans le « Non WHO Reference Material 4th HCV RNA Genotype Panel » (NIBSC), un des trois réplicats du génotype 6i du VHC n'a pas été détecté. La plupart des échantillons ont également été quantifiés au titre théorique de $\pm 0,5 \log$ UI/mL (25-247 UI/mL) à l'aide du HCV ELITe MGB® Kit en association avec l'instrument ELITe InGenius. Dans le « Non WHO Reference Material 4th HCV RNA Genotype Panel » (NIBSC), le génotype 6i du VHC a également été sous-estimé. En revanche, ce génotype a été correctement détecté et quantifié dans les deux autres panels.

Marqueurs potentiellement interférents : réactivité croisée

La réactivité croisée potentielle du test avec d'autres organismes pouvant être présents dans des échantillons cliniques de plasma et de sérum a été évaluée par une comparaison *in silico* des séquences disponibles dans les bases de données de nucléotides.

Les régions choisies pour l'hybridation des amorces et de la sonde ont été vérifiées par rapport à l'alignement des séquences d'autres organismes disponibles dans les bases de données. L'analyse des régions d'hybridation a montré une absence d'homologies significatives avec les organismes non souhaitables.

L'absence de réactivité croisée avec d'autres organismes qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques de plasma et de sérum a également été vérifiée en testant un panel de matériels de référence certifiés.

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Des échantillons d'ADN ou d'ARN génomique de différents marqueurs potentiellement interférents (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) ont été analysés à une concentration élevée (au moins 10^5 copies/réaction) en trois réplicats en association avec le système ELITe InGenius en mode « PCR Only » (PCR seulement). L'ADN ou l'ARN génomique de chaque organisme a été ajouté à 80 000 copies de Contrôle Interne par réaction afin d'imiter l'échantillon clinique extrait.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| ID de l'échantillon | VHC Pos./Rép. | Résultat |
|------------------------------|---------------|---------------------------|
| HIV1 | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| HIV2 | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| HTLV1 | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| HTLV2 | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| CMV | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| EBV | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| VHA | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| VHB | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| VHE | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| HSV1 | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| HSV2 | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| HHV6 | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| VZV | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| Grippe A | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| Grippe B | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| RSV | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| ADV | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| VNO | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| DV3 | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| EV | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| PVB19 | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| <i>Candida albicans</i> | 0/3 | Aucune réactivité croisée |

Tous les marqueurs potentiellement interférents testés n'ont montré aucune réactivité croisée pour la cible VHC à l'aide du produit HCV ELITe MGB® Kit.

Marqueurs potentiellement interférents : interférence

L'absence d'interférence par d'autres organismes qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques de plasma a été vérifiée en testant un panel de matériels de référence certifiés.

Des échantillons d'ADN ou d'ARN génomique de différents marqueurs potentiellement interférents (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) à une concentration élevée (au moins 10^5 copies/réaction) ont été dopés avec un matériel de référence d'ARN du VHC (6° étalon international de l'OMS, NIBSC) à une faible concentration (environ 10 copies/réaction). Les échantillons ont été analysés en trois réplicats en association avec le système ELITe InGenius en mode « PCR Only » (PCR seulement). Chaque échantillon a été ajouté à 80 000 copies de contrôle interne par réaction afin d'imiter l'échantillon clinique extrait.

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| ID de l'échantillon | VHC Pos./Rép. | Résultat |
|------------------------------|---------------|---------------------|
| HIV1 | 3/3 | Aucune interférence |
| HIV2 | 3/3 | Aucune interférence |
| HTLV1 | 3/3 | Aucune interférence |
| HTLV2 | 3/3 | Aucune interférence |
| CMV | 3/3 | Aucune interférence |
| EBV | 3/3 | Aucune interférence |
| VHA | 3/3 | Aucune interférence |
| VHB | 3/3 | Aucune interférence |
| VHE | 3/3 | Aucune interférence |
| HSV1 | 3/3 | Aucune interférence |
| HSV2 | 3/3 | Aucune interférence |
| HHV6 | 3/3 | Aucune interférence |
| VZV | 3/3 | Aucune interférence |
| Grippe A | 3/3 | Aucune interférence |
| Grippe B | 3/3 | Aucune interférence |
| RSV | 3/3 | Aucune interférence |
| ADV | 3/3 | Aucune interférence |
| VNO | 3/3 | Aucune interférence |
| DV3 | 3/3 | Aucune interférence |
| EV | 3/3 | Aucune interférence |
| PVB19 | 3/3 | Aucune interférence |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 3/3 | Aucune interférence |
| <i>Candida albicans</i> | 3/3 | Aucune interférence |

La présence des organismes potentiellement interférents testés n'a montré aucune inhibition de l'amplification de la cible VHC à l'aide du produit HCV ELITe MGB® Kit.

Substances potentiellement interférentes

L'effet de substances potentiellement interférentes a été évalué en analysant le panel « AcroMetrix® Inhibition Panel » (Thermo Fisher Scientific Inc.), qui contient des substances endogènes entraînant une hémolyse, un ictère et une lipémie, ainsi que des substances exogènes, notamment l'EDTA et l'héparine.

Les échantillons du panel d'inhibition ont été dopés avec un matériel de référence certifié du VHC (6^e étalon international pour le VHC de l'OMS, NIBSC) à une concentration de 3 x la LoD (environ 78 UI/mL).

De plus, 7 autres substances potentiellement interférentes ont été testées à la concentration pertinente : le ganciclovir, l'azithromycine, le glécaprévir, la ribavirine, le sofosbuvir, le pibrentasvir, le velpatasvir.

Les substances ont été individuellement ajoutées à des échantillons de plasma prélevé sur ACD négatifs pour le VHC, qui ont été dopés avec un matériel de référence certifié du VHC (NIBSC) à une concentration de 3 x la LoD (environ 78 UI/mL).

Les échantillons ont été traités en trois réplicats sur le système ELITe InGenius en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR). Les valeurs Ct (échantillons de référence et de test) de la cible VHC et du contrôle interne ont été utilisées pour calculer le pourcentage du coefficient de variation (% CV) afin d'évaluer l'éventuelle interférence.

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

| Échantillon | VHC Pos./Rép. | % CV Ct du VHC | % CV Ct de l'IC | Résultat |
|---------------|---------------|----------------|-----------------|---------------------|
| Bilirubine | 3/3 | 1,12 | 0,91 | Aucune interférence |
| Triglycérides | 3/3 | 2,20 | 0,83 | Aucune interférence |
| Hémoglobine | 1/3 | N.A. | 10,80 | Interférence |
| Héparine | 0/3 | N.A. | 7,68 | Interférence |
| EDTA | 3/3 | 1,36 | 1,28 | Aucune interférence |
| Ganciclovir | 3/3 | 1,94 | 0,94 | Aucune interférence |
| Azithromycine | 3/3 | 2,22 | 1,69 | Aucune interférence |
| Sofosbuvir | 3/3 | 2,03 | 0,93 | Aucune interférence |
| Pibrentasvir | 3/3 | 2,81 | 0,92 | Aucune interférence |
| Glécaprévir | 3/3 | 2,00 | 1,09 | Aucune interférence |
| Ribavirine | 3/3 | 1,72 | 1,03 | Aucune interférence |
| Velpatasvir | 3/3 | 2,01 | 0,84 | Aucune interférence |
| Référence | 3/3 | 1,12 | 0,91 | Aucune interférence |

La majorité des substances testées n'entraînent aucune interférence avec l'amplification du VHC ou du contrôle interne. Le pourcentage % CV des valeurs Ct était inférieur à 2,5 %.

Il a été confirmé que l'héparine et l'hémoglobine à une concentration élevée (3,4-4,6 g/dL) inhibaient l'amplification du VHC mais que, en raison de la valeur seuil du contrôle interne (Ct de l'IC < 31), le résultat des échantillons est « non valide » et pas « faux négatif » dans la majorité des cas.

Absence de contamination croisée

L'absence de contamination croisée a été testée en analysant les résultats de cinq sessions d'analyse dans lesquelles des échantillons de plasma négatifs pour l'ARN du VHC étaient testés en alternance avec des échantillons de plasma dopés avec un matériel de référence certifié du VHC (ZeptoMetrix) à une concentration de 1 x 10⁶ UI/mL.

Cinq séries d'échantillons, avec une alternance de six échantillons positifs et six échantillons négatifs, ont été testées sur le système ELITe InGenius en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| Échantillons | N | Négatifs | Positifs |
|--------------|----|----------|----------|
| Positifs | 30 | 0 | 30 |
| Négatifs | 30 | 30 | 0 |

Aucun des échantillons négatifs pour le VHC testés n'a généré de résultats faux positifs. Dans ce test, aucune contamination croisée n'a été détectée (intra-session et inter-sessions).

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

Taux de défaillance de l'ensemble du système

Le taux de défaillance de l'ensemble du système, entraînant des résultats faux négatifs, a été vérifié en association avec le **ELITe InGenius** en analysant un panel d'échantillons dopés avec l'ARN du VHC à un faible titre.

100 échantillons différents de plasma prélevé sur EDTA, 30 échantillons différents de plasma prélevé sur ACD et 30 échantillons différents de sérum, testés négatifs pour l'ARN du VHC, ont été dopés avec un matériel de référence certifié (OMS) à une concentration de 3 x la LoD (environ 78 UI/mL). Les échantillons ont été testés sur le système ELITe InGenius en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

| Échantillons | N | Négatifs | Positifs | UI/mL moyennes du VHC |
|-------------------------|-----|----------|----------|-----------------------|
| Plasma prélevé sur EDTA | 100 | 0 | 100 | 55 |
| Plasma prélevé sur ACD | 30 | 0 | 30 | 62 |
| Sérum | 30 | 0 | 30 | 52 |

Aucun des échantillons positifs pour le VHC testés n'a généré de résultats faux négatifs. Dans ce test, le taux de défaillance de l'ensemble du système était de 0 %.

Le taux de défaillance de l'ensemble du système, entraînant des résultats faux négatifs, a été vérifié en association avec le **ELITe BeGenius** en analysant un panel d'échantillons dopés avec l'ARN du VHC à un faible titre.

100 échantillons différents de plasma prélevé sur EDTA testés négatifs pour l'ARN du VHC ont été dopés avec un matériel de référence certifié (OMS) à une concentration de 3 x la LoD (environ 78 UI/mL). Les échantillons ont été testés sur le système ELITe BeGenius en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

| Échantillons | N | Négatifs | Positifs | UI/mL moyennes du VHC |
|--|-----|----------|----------|-----------------------|
| Plasma prélevé sur EDTA dopé avec le VHC | 100 | 0 | 100 | 77 |

Aucun des échantillons positifs pour le VHC testés n'a généré de résultats faux négatifs. Dans ce test, le taux de défaillance de l'ensemble du système était de 0 %.

Répétabilité

La répétabilité des résultats obtenus à l'aide du produit HCV ELITe MGB Kit en association avec le système ELITe InGenius a été testée en analysant un panel d'échantillons de plasma. Le panel incluait un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VHC (OMS) à une concentration de 3 x la LoD (environ 78 UI/mL) et de 10 x la LoD (environ 260 UI/mL).

La répétabilité a été obtenue en analysant les échantillons du panel en quatre réplicats, à raison de deux analyses par jour, en utilisant le même lot de produit, sur deux jours différents. Trois lots de produit ont été utilisés avec le même instrument et le même opérateur. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les valeurs Ct de la cible et du contrôle interne ont été utilisées pour calculer le % CV afin d'évaluer la répétabilité en tant qu'imprécision.

Un résumé des résultats est présenté dans les tableaux ci-dessous.

| Répétabilité intra-session | | | | | | | | |
|----------------------------|-----------|-------------|------|------|------------------|----------|------|------|
| Échantillon | VHC | | | | Contrôle Interne | | | |
| | Pos./rép. | Ct moyen | EC | % CV | Pos./rép. | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatifs | 0/8 | Indéterminé | - | - | 24/24 | 28,41 | 0,36 | 1,27 |
| 3 x la LoD | 8/8 | 38,02 | 0,83 | 2,19 | | | | |
| 10 x la LoD | 8/8 | 35,91 | 0,59 | 1,65 | | | | |

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

| Répétabilité inter-sessions | | | | | | | | |
|-----------------------------|-----------|-------------|------|------|------------------|----------|------|------|
| Échantillon | VHC | | | | Contrôle Interne | | | |
| | Pos./rép. | Ct moyen | EC | % CV | Pos./rép. | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatifs | 0/16 | Indéterminé | - | - | 48/48 | 28,47 | 0,38 | 1,33 |
| 3 x la LoD | 16/16 | 37,89 | 0,84 | 2,21 | | | | |
| 10 x la LoD | 16/16 | 35,95 | 0,47 | 1,32 | | | | |

| Répétabilité inter-lots | | | | | | | | |
|-------------------------|-----------|-------------|------|------|------------------|----------|------|------|
| Échantillon | VHC | | | | Contrôle Interne | | | |
| | Pos./rép. | Ct moyen | EC | % CV | Pos./rép. | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatifs | 0/48 | Indéterminé | - | - | 144/144 | 28,52 | 0,46 | 1,61 |
| 3 x la LoD | 48/48 | 38,25 | 0,36 | 0,95 | | | | |
| 10 x la LoD | 48/48 | 36,56 | 0,55 | 1,51 | | | | |

Dans le test de répétabilité, l'analyse détectait la cible VHC comme attendu et montrait un faible % CV des valeurs Ct qui n'excédait pas 2,19 % pour le VHC et 1,61 % pour le contrôle interne.

La répétabilité des résultats obtenus à l'aide du produit HCV ELITe MGB Kit en association avec le système **ELITe BeGenius** a été testée en analysant un panel d'échantillons de plasma. Le panel incluait un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VHC (6^e étalon international de l'OMS, NIBSC) à une concentration de 3 x la LoD (environ 78 UI/mL) et de 10 x la LoD (environ 260 UI/mL).

La répétabilité a été obtenue en analysant les échantillons du panel en quatre réplicats, à raison de deux analyses par jour, en utilisant le même lot de produit, sur deux jours différents. Trois lots de produit ont été utilisés avec le même instrument et le même opérateur. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les valeurs Ct de la cible et du contrôle interne ont été utilisées pour calculer le % CV afin d'évaluer la répétabilité en tant qu'imprécision.

Un résumé des résultats est présenté dans les tableaux ci-dessous.

| Répétabilité intra-session | | | | | | | | |
|----------------------------|-----------|-------------|------|------|------------------|----------|------|------|
| Échantillon | VHC | | | | Contrôle Interne | | | |
| | Pos./Rép. | Ct moyen | EC | % CV | Pos./Rép. | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatifs | 0/8 | Indéterminé | - | - | 24/24 | 28,09 | 0,28 | 0,99 |
| 3 x la LoD | 8/8 | 37,65 | 0,50 | 1,33 | | | | |
| 10 x la LoD | 8/8 | 35,97 | 0,43 | 1,19 | | | | |

| Répétabilité inter-sessions | | | | | | | | |
|-----------------------------|-----------|-------------|------|------|------------------|----------|------|------|
| Échantillon | VHC | | | | Contrôle Interne | | | |
| | Pos./Rép. | Ct moyen | EC | % CV | Pos./Rép. | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatifs | 0/16 | Indéterminé | - | - | 48/48 | 28,05 | 0,29 | 1,03 |
| 3 x la LoD | 16/16 | 37,80 | 0,72 | 1,91 | | | | |
| 10 x la LoD | 16/16 | 35,93 | 0,47 | 1,30 | | | | |

Dans le test de répétabilité, l'analyse a détecté la cible VHC comme attendu et a montré des valeurs Ct avec un % CV inférieur à 5 % pour le VHC et le Contrôle Interne

Reproductibilité

La reproductibilité des résultats obtenus à l'aide du produit HCV ELITe MGB Kit en association avec le système ELITe InGenius a été testée en analysant un panel d'échantillons de plasma. Le panel incluait un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VHC (OMS) à une concentration de 3 x la LoD (environ 78 IU/mL) et de 10 x la LoD (environ 260 IU/mL).

La reproductibilité a été obtenue en analysant les échantillons du panel en quatre réplicats, à raison d'une analyse par jour, sur deux jours par site. Trois lots de produit différents ont été utilisés dans trois sites différents, sur trois instruments différents et par trois opérateurs différents. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les valeurs Ct de la cible et du Contrôle Interne ont été utilisées pour calculer le % CV afin d'évaluer la reproductibilité en tant qu'imprécision.

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

| Reproductibilité inter-sites | | | | | | | | |
|------------------------------|-----------|-------------|------|------|------------------|----------|------|------|
| Échantillon | VHC | | | | Contrôle Interne | | | |
| | Pos./rép. | Ct moyen | EC | % CV | Pos./rép. | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatifs | 0/24 | Indéterminé | - | - | 72/72 | 28,18 | 0,59 | 2,09 |
| 3 x la LoD | 24/24 | 36,84 | 0,59 | 1,60 | | | | |
| 10 x la LoD | 24/24 | 34,94 | 0,42 | 1,20 | | | | |

Dans le test de reproductibilité, l'analyse détectait la cible VHC comme attendu et montrait un faible % CV des valeurs Ct qui n'excédait pas 1,6 % pour le VHC et 2,09 % pour le contrôle interne.

La reproductibilité des résultats obtenus à l'aide du produit HCV ELITe MGB Kit en association avec le système **ELITe BeGenius** a été testée en analysant un panel d'échantillons de plasma. Le panel incluait un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VHC (6° étalon international de l'OMS, NIBSC) à une concentration de 3 x la LoD (environ 78 UI/mL) et de 10 x la LoD (environ 260 UI/mL).

La reproductibilité a été obtenue en analysant les échantillons du panel en quatre réplicats, à raison d'une analyse par jour, sur deux jours pour chaque instrument. Trois lots de produits différents ont été utilisés avec trois instruments différents et par trois opérateurs différents. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires sur le système **ELITe BeGenius®** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les valeurs Ct de la cible et du Contrôle Interne ont été utilisées pour calculer le % CV afin d'évaluer la reproductibilité en tant qu'imprécision.

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

| Reproductibilité inter-instruments | | | | | | | | |
|------------------------------------|-----------|-------------|--------|------|------------------|----------|--------|------|
| Échantillon | VHC | | | | Contrôle Interne | | | |
| | Pos./Rép. | Ct moyen | EC | % CV | Pos./Rép. | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatifs | 0/24 | Indéterminé | - | - | 72/72 | 28,57 | 0,5529 | 1,94 |
| 3 x la LoD | 23/23 | 37,99 | 0,6797 | 1,79 | | | | |
| 10 x la LoD | 24/24 | 36,54 | 0,6210 | 1,70 | | | | |

| Reproductibilité inter-lots | | | | | | | | |
|-----------------------------|-----------|-------------|------|------|------------------|----------|------|------|
| Échantillon | VHC | | | | Contrôle Interne | | | |
| | Pos./Rép. | Ct moyen | EC | % CV | Pos./Rép. | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatifs | 0/24 | Indéterminé | - | - | 72/72 | 28,43 | 0,41 | 1,45 |
| 3 x la LoD | 24/24 | 37,95 | 0,75 | 1,97 | | | | |
| 10 x la LoD | 24/24 | 36,35 | 0,62 | 1,71 | | | | |

Dans le test de reproductibilité, l'analyse a détecté la cible VHC comme attendu et a montré des valeurs Ct avec un % CV inférieur à 5 % pour le VHC et le Contrôle Interne

Facteur de conversion en unités internationales

Le facteur de conversion, permettant d'exprimer les résultats quantitatifs en unités internationales/mL à partir d'un nombre de copies/mL, a été calculé en utilisant un panel de quatre dilutions (0,5 log entre les dilutions) du matériel de référence étalon certifié « 6° étalon international pour le VHC de l'OMS » (NIBSC) dans du plasma prélevé sur EDTA qui était négatif pour l'ARN du VHC.

Chaque point du panel a été testé en 27 réplicats en utilisant trois lots de produit différents, sur trois instruments différents et trois jours différents. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires sur le système **ELITe InGenius** en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Le facteur de conversion a été calculé par l'analyse de la différence de concentration logarithmique entre le titre de référence en UI/mL et les résultats obtenus en copies/mL, et s'avère être de 2,4 UI/copie.

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

| Facteur de conversion en unités internationales, Fc = 2,4 UI/copie | | | | | | |
|--|-----------|----|---------------------------|----------------|--------------------|-------------------------------|
| Échantillon | | | Résultat | | | Différence log. (réf. - test) |
| UI/mL | Log UI/mL | N | Nombre moyen de copies/mL | UI moyennes/mL | Log UI moyennes/mL | |
| 31623 | 4,5000 | 27 | 13233 | 31254 | 4,4807 | +0,0193 |
| 10000 | 4,0000 | 27 | 4482 | 10595 | 4,0133 | -0,0133 |
| 3162 | 3,5000 | 27 | 1414 | 3342 | 3,5091 | -0,0091 |
| 1000 | 3,0000 | 27 | 439 | 1036 | 2,9969 | +0,0031 |

Étant donné que l'équivalence entre le plasma prélevé sur EDTA, le plasma ACD et le sérum a été démontrée (se reporter aux sections « Équivalence des matrices » et « Plage de mesure linéaire »), le facteur de conversion peut être appliquée aux trois matrices.

Le facteur de conversion, permettant d'exprimer les résultats quantitatifs en unités internationales/mL à partir d'un nombre de copies/mL, a été vérifié sur les systèmes **ELITe BeGenius** et **ELITe InGenius** en utilisant un panel de dilutions (0,5 Log entre les dilutions) du matériel de référence étalon certifié (6° étalon international de l'OMS, NIBSC) dans du plasma prélevé sur EDTA testé négatif pour l'ARN du VHC. Le panel consistait en cinq points de dilution à partir d'environ 4,5 Log UI/mL jusqu'à 2,5 Log UI/mL. Chaque point du panel a été testé en 4 réplicats.

La précision de quantification cible, en tant qu'écart-type des Log UI/mL, était inférieure à 0,5 Log.

L'exactitude de quantification cible, en tant que différence entre les concentrations théorique et mesurée en Log UI/mL, était inférieure à 0,5 Log.

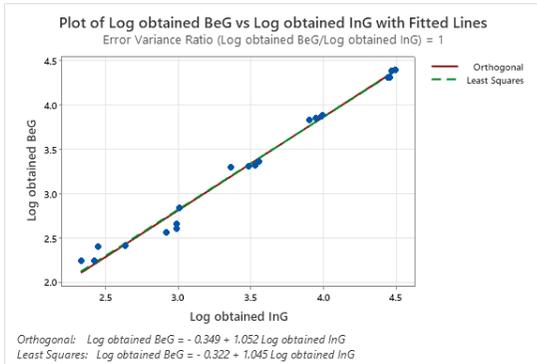
Ces résultats confirmaient le facteur de conversion calculé pour les échantillons de plasma avec le **ELITe InGenius**.

Les résultats obtenus avec les **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** ont été analysés par une régression orthogonale et linéaire afin de calculer la corrélation entre les méthodes.

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



L'analyse de régression orthogonale génère une ordonnée à l'origine de -0,3494 (IC à 95 % : -0,5546 ; -0,1442) et une pente de 1,0523 (IC à 95 % : 0,9943 ; 1,1103). L'analyse de régression linéaire génère un R2 de 0,985.

Reproductibilité avec un matériel de référence

La reproductibilité des résultats du test, par comparaison aux résultats obtenus en utilisant d'autres méthodes dans différents laboratoires, a été vérifiée en testant le panel d'étude de référence « QCMD 2020 Hepatitis C Virus RNA EQA Programme » (Qnostics).

Chaque point du panel a été testé sur le système ELITe InGenius en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Les valeurs de quantité de consensus des systèmes d'amplification en temps réel disponibles dans le commerce ont été comparées aux résultats du test afin d'évaluer l'exactitude en tant que biais.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| Panel du VHC de 2020 du QCMD | | Résultats du consensus | Résultats du test | Différence (cons. - test) |
|------------------------------|--------------------------|------------------------|-------------------|---------------------------|
| ID de l'échantillon | Contenu de l'échantillon | Log UI/mL | Log UI/mL | |
| HCVRNA101S-01 | VHC génotype 3a | 3,3040 | 3,5794 | -0,2754 |
| HCVRNA101S-02 | VHC génotype 3a | 2,3130 | 2,2375 | 0,0755 |
| HCVRNA101S-03 | VHC génotype 1b | 2,8600 | 3,0532 | -0,1932 |
| HCVRNA101S-04 | VHC génotype 1b | 2,8370 | 2,7850 | 0,0520 |
| HCVRNA101S-05 | Négatif pour le VHC | non détecté | non détecté | N.A. |
| HCVRNA101S-06 | VHC génotype 1b | 3,8500 | 3,8352 | 0,0148 |
| HCVRNA101S-07 | VHC génotype 1b | 3,3730 | 3,4432 | -0,0702 |
| HCVRNA101S-08 | VHC génotype 1b | 1,7880 | 1,6812 | 0,1068 |

Dans ce test, l'analyse a correctement détecté tous les membres du panel. Les sept échantillons positifs ont été quantifiés dans la plage de consensus à ± 0,5 log UI/mL.

Sensibilité diagnostique : corrélation des méthodes

La sensibilité diagnostique du test, en ce qui concerne la corrélation des résultats obtenus avec différentes méthodes, a été évaluée en analysant des échantillons cliniques positifs pour l'ARN du VHC provenant de patients recevant une thérapie antivirale, compris dans la plage de mesure du HCV ELITe MBG Kit, et en utilisant des méthodes de diagnostic moléculaire de référence portant le marquage CE DIV (« cobas® HCV for use on the 4800 Systems » et « cobas® HCV for use on the 6800 Systems », Roche Diagnostics, Cobas HCV). Étant donné que les performances analytiques du ELITe BeGenius sont équivalentes à celles du ELITe InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la sensibilité diagnostique du test obtenue en association avec le ELITe InGenius s'applique également au ELITe BeGenius.

HCV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

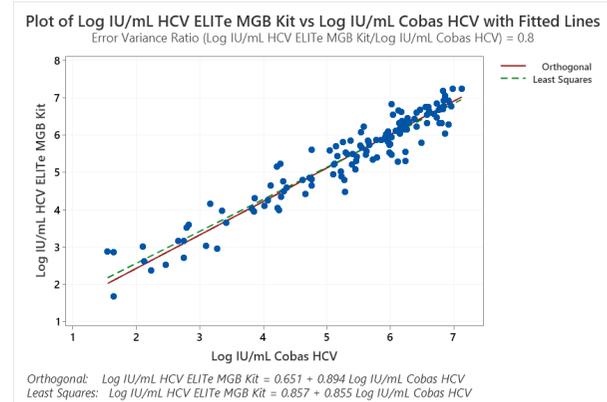
REF RTK601ING

L'étude de corrélation a été effectuée dans deux sites différents sur les 128 échantillons de plasma prélevé sur EDTA suivants :

- site 1 : 96 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA positifs pour l'ARN du VHC,
- site 2 : 32 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA positifs pour l'ARN du VHC,

Chaque échantillon a été testé en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction, la transcription inverse, l'amplification, la détection et l'interprétation des résultats, à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A. et par les méthodes de référence. Les résultats obtenus avec le HCV ELITe MBG Kit et les méthodes de référence ont été analysés par une régression orthogonale et linéaire afin de calculer la corrélation entre les méthodes.

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



Dans ce test, l'analyse de régression de Deming génère une pente de 0,894 (IC à 95 % : 0,846 – 0,941) et une ordonnée à l'origine de 0,651 (IC à 95 % : 0,391 – 0,911). L'analyse de régression linéaire génère une valeur R2 de 0,916.

Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, en ce qui concerne le pourcentage de concordance négative des résultats obtenus avec différentes méthodes, a été évaluée en analysant des échantillons cliniques négatifs pour l'ARN du VHC testés par des méthodes de diagnostic moléculaire de référence portant le marquage CE DIV (« cobas® HCV for use on the 4800 Systems » et « cobas® HCV for use on the 6800 Systems », Roche Diagnostics, Cobas HCV). Étant donné que les performances analytiques du ELITe BeGenius sont équivalentes à celles du ELITe InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la spécificité diagnostique du test obtenue en association avec le ELITe InGenius s'applique également au ELITe BeGenius.

L'étude de la spécificité diagnostique a été effectuée dans deux sites différents sur les 135 échantillons de plasma prélevé sur EDTA suivants :

- site 1 : 100 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA négatifs pour l'ARN du VHC,
- site 2 : 35 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA négatifs pour l'ARN du VHC.

Chaque échantillon a été testé en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction, la transcription inverse, l'amplification, la détection et l'interprétation des résultats, à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A. Les résultats obtenus à l'aide du HCV ELITe MBG Kit ont été analysés afin de calculer le pourcentage de concordance négative avec les méthodes de référence.

Les résultats, après analyse des échantillons discordants, sont résumés dans le tableau suivant.

| Échantillons | N | Positifs | Négatifs | Non valides | Spécificité diagnostique |
|---|-----|----------|----------|-------------|--------------------------|
| Plasma prélevé sur EDTA négatif pour l'ARN du VHC | 135 | 0 | 135 | 0 | 100 % |

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Dans ce test, tous les échantillons ont été confirmés comme négatifs. La spécificité diagnostique du HCV ELITE MGB Kit était de 100 %.

La valeur seuil Ct du Contrôle Interne (Ct de l'IC) est définie à 31.

Remarque : les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et l'instrument sont présentés à la section 7 de la Fiche technique du produit « HCV ELITE MGB Kit », FTP 601ING.

BIBLIOGRAPHIE

- P. Halfon et al. (2006) *J Clin Microbiology* 44: 2507 – 2511
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30
K. Linnet et al. (2004) *Clin. Chem.* 50: 732 - 740.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

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

Le plasma prélevé sur EDTA ou sur ACD et le sérum peuvent être obtenus à partir de sang total conservé à +2/+25 °C pendant 24 heures au maximum.

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

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

Il n'existe actuellement aucune donnée disponible en ce qui concerne les performances du produit avec d'autres échantillons cliniques, par exemple le sang total.

Ce produit n'est pas destiné à être utilisé comme un test de dépistage de la présence du VHC dans le sang ou les produits sanguins, ou comme un test diagnostique pour confirmer la présence d'une infection par le VHC.

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

La méthode d'amplification en temps réel utilisée dans ce produit présente une sensibilité analytique élevée qui la rend sensible aux contaminations croisées par les échantillons positifs, les contrôles positifs et les produits d'amplification eux-mêmes. Les contaminations croisées peuvent générer des résultats faux positifs. Le format du produit est capable de limiter les contaminations croisées. Toutefois, les contaminations croisées ne peuvent être évitées qu'en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et en suivant le présent mode d'emploi.

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

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

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

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

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

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

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

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

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

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, les résultats obtenus avec ce produit doivent être interprétés en tenant compte de l'ensemble des données cliniques et des autres analyses de laboratoire effectuées chez le patient.

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, il existe un risque résiduel d'obtention de résultats non valides, faux positifs et faux négatifs avec ce produit. Ce risque résiduel ne peut pas être éliminé ni réduit par la suite. Dans certains cas, ce risque résiduel pourrait contribuer à prendre de mauvaises décisions, avec des effets potentiellement dangereux pour le patient.

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

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

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

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

| Erreur 30103 | |
|---|---|
| Causes possibles | Solutions |
| Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon. | En cas d'observation d'une amplification significative sur la courbe de PCR : - sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat. Si une valeur Ct est requise : - répéter l'amplification avec une dilution à 1:10 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement), ou - répéter l'extraction avec une dilution à 1:10 de l'échantillon primaire dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « Extract + PCR » (Extraction + PCR). |

| Erreur TH, Erreur SDM, Erreur Ct | |
|---|---|
| Causes possibles | Solutions |
| Forme anormale de la courbe de l'échantillon. | En cas d'observation d'une amplification significative sur la courbe de PCR générant une erreur : - répéter l'amplification avec une dilution à 1:10 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement), ou - répéter l'extraction avec une dilution à 1:10 de l'échantillon primaire dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « Extract + PCR » (Extraction + PCR). |

LÉGENDE DES SYMBOLES

-  Numéro de référence.
-  Limite supérieure de température.
-  Code de lot.
-  Date de péremption (dernier jour du mois).
-  Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.
-  Conforme aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. Certifié par DEKRA Certification B.V., Pays-Bas.
-  Contenu suffisant pour « N » tests.
-  Attention, consulter le mode d'emploi.
-  Contenu.
-  Tenir à l'abri de la lumière du soleil.
-  Fabricant.

NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

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

Les réactifs de détection ELITe MGB® sont couverts par un ou plusieurs des brevets américains numéros 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,163,910, 8,389,745, 8,969,003, 8,980,855, 9,056,887, 9,085,800, 9,169,256 et par les brevets EP numéros 1068358, 1144429, 1232157, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939, ainsi que par des demandes de brevet actuellement en instance.

La technologie ELITe InGenius et ELITe BeGenius est couverte par des brevets et des demandes de brevets.

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

TaqMan™ est une marque de commerce de Thermo Fisher Scientific.
cobas® est une marque déposée de Roche Diagnostics.
ELITe MGB®, le logo ELITe MGB®, ELITe InGenius® et ELITe BeGenius® sont des marques déposées d'ELITechGroup au sein de l'Union européenne.



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 “HCV ELITe MGB® Kit” product is quantitative nucleic acids reverse transcription and amplification assay for the detection and the quantification of the RNA of Hepatitis C Virus (HCV) in RNA samples extracted from clinical specimens. The assay is able to detect the RNA of HCV belonging to 1, 2, 3, 4, 5 and 6 genotypes. The assay is validated in association with “ELITe InGenius®” and “ELITe BeGenius®” system starting from human plasma collected in EDTA or in ACD and serum samples. The product is intended for use as an aid in the management of HCV-infected individuals undergoing antiviral therapy, together with patient’s clinical data and other laboratory test results. This product is not intended for use as a screening test for the presence of HCV in blood or blood products or as a diagnostic test to confirm the presence of HCV infection.

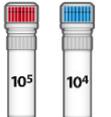
Amplified sequence

| Sequence | Gene | Fluorophore | Channel |
|------------------|---------------------|-------------|---------|
| Target | HCV (5' UTR region) | FAM | HCV |
| Internal Control | MS2 phage | AP525 | IC |

Validated matrix

› Plasma EDTA › Plasma ACD › Serum

Kit content

| HCV ELITe MGB Mix | HCV ELITe Standard | HCV - ELITe Positive Control | HCV Internal Control |
|--|--|--|--|
|  X 4 |  X 2 |  X 1 |  X 8 |
| HCV 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 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 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: TF-350-L-R-S
- › 1000 µL Filter Tips Tecan : 30180118

ELITe InGenius protocol

| | | | |
|----------------------------|--------|-------------------------------|---------------------------|
| › Sample volume | 600 µL | › Unit of quantitative result | International Unit: IU/mL |
| › HCV CPE volume | 10 µL | › Conversion factor to IU | 2.4 IU/copy |
| › Total elution volume | 50 µL | › Frequency of controls | 15 days |
| › PCR elution input volume | 20 µL | › Frequency of calibration | 60 days |
| › HCV PCR Mix volume | 20 µL | | |

Performance

| Matrix | Limit of Detection | Method Correlation | Diagnostic Specificity |
|----------------|-------------------------------------|--|---|
| Plasma / Serum | 26 IU / mL 11 copies / mL | R² = 0.916 128 quantified samples | 100% 135 confirmed samples / 135 tested samples |

reference methods:

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

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

Sample preparation

Plasma samples collected in EDTA or ACD and Serum samples must be identified according to laboratory guidelines, transported and stored at room temperature (~+25 °C) for a maximum of three days or at +2 / +8 °C for a maximum of five days. Otherwise, they must be frozen and stored at ~-20 °C for a maximum of one month or at ~-70 °C for six months. Do not use Plasma collected in heparin in order to prevent inhibition of amplification reaction and frequent invalid results.

ELITE InGenius Procedures

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

Before analysis

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

4. Prepare the complete reaction mixture

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

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

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

- | | | |
|---|--|--|
| <p>1. Select "Perform Run" on the touch screen</p> | <p>2. Verify the extraction volumes: Input: "1000 µL", elution: "50 µL"</p> | <p>3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID</p> |
| <p>4. Select the "Assay protocol" of interest: HCV ELITE_PL_600_50 or HCV ELITE_Se_600_50</p> | <p>5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube</p> | <p>6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the inventory block</p> |
| <p>7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks</p> | <p>8. Close the door Start the run</p> | <p>9. View, approve and store the results</p> |

Procedure 2 - PCR only

- | | | |
|---|---|---|
| <p>1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above</p> | <p>5. Select the method "PCR only" and set the sample position "Elution Tube"</p> | <p>6. Load the complete reaction mixture in the inventory block</p> |
| <p>7. Load: PCR cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid</p> | <p>8. Close the door Start the run</p> | <p>9. View, approve and store the results</p> |

Procedure 3 - Extraction only

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

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

4. Prepare the complete reaction mixture

| Sample Number (N) | HCV PCR Mix | RT EnzymeMix |
|--------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| $1 \leq N \leq 5$ | $(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$ | $(N + 1) \times 0.3 \mu\text{L}$ |
| $6 \leq N \leq 11$ | $(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$ | $(N + 2) \times 0.3 \mu\text{L}$ |
| $N = 12$ | 290 μL | 4.4 μL |

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

Note: For more than 12 samples:

- prepare a first 2 mL tube with the complete reaction mixture for 12 samples;
- prepare a second 2 mL tube with the complete reaction mixture by calculating the volumes of the two sub-components on the basis of the number of samples remaining (N-12).

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

- | | | |
|---|---|--|
| 1. Select "Perform Run" on the touch screen | 2. Verify the extraction volumes: Input: "600 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: HCV ELiTe_Be_PL_600_50 or HCV ELiTe_Be_Se_600_50 | 5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube | 6. Load the complete reaction mixture and the Internal Control in the inventory block |
| 7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks | 8. Close the door Start the run | 9. View, approve and store the results |

Procedure 2 - PCR only

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

Procedure 3 - Extraction only

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