



NOTICE of CHANGE dated 10/04/2026

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:

- *Update of the paragraph "Potential interfering markers: Cross-reactivity".*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

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

| PRODUCT REF. | Lot Number | Expiry date |
|--------------|------------|-------------|
| RTK601ING | C0125-009 | 31/07/2026 |




ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALIE
Bureaux : Tél. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 7611
E-mail : emd.support@elitechgroup.com

HCV ELITe MGB® Kit

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

| | | | | |
|------------|----------------|---|------------|--|
| REF | RTK601ING |  | IVD |  -20 °C |
| UDI | 08033891487072 | 0123 | | |

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|---|---------|
| APPLICATION | page 1 |
| PRINCIPE DU TEST | page 2 |
| DESCRIPTION DU PRODUIT | page 2 |
| MATÉRIEL FOURNI | page 3 |
| MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI | page 3 |
| AUTRES PRODUITS REQUIS | page 4 |
| AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS | page 4 |
| ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES | page 6 |
| PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius | page 8 |
| PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius | page 14 |
| CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE | page 19 |
| BIBLIOGRAPHIE | page 30 |
| LIMITES DE LA PROCÉDURE | page 31 |
| PROBLÈMES ET SOLUTIONS | page 32 |
| LÉGENDE DES SYMBOLES | page 35 |
| AVIS AUX UTILISATEURS | page 35 |
| NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE | page 36 |
| ANNEXE: GUIDE DE DÉMARRAGE RAPIDE | page A |

APPLICATION

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

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

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

Le produit n'est pas destiné au dépistage ou à la détection de la présence ou de l'exposition à des agents transmissibles dans le sang, les composants sanguins, les cellules, les tissus, les organes ou l'un de

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

leurs dérivés, afin d'évaluer leur adéquation pour la transfusion, la transplantation ou l'administration de cellules. Le produit n'est pas destiné à être utilisé comme un test de diagnostic pour confirmer la présence d'une infection par le VHC.

PRINCIPE DU TEST

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

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

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

DESCRIPTION DU PRODUIT

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

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

- **HCV ELITE Standard**

Ce composant fournit les sous-composants **HCV Q-PCR Standard**, quatre solutions stabilisées d'ADN plasmidique contenant la région amplifiée de l'UTR 5' du VHC à un **titre connu**. Le **HCV ELITE Standard** doit être utilisé avec le **HCV ELITE MGB Mix** sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** afin de calculer la courbe d'étalonnage du système (lot du produit et instrument) pour la quantification du VHC.

La concentration de l'ADN plasmidique, déterminée par un spectrophotomètre UV (en copies/mL), a été corrélée au « 6^e étalon international de l'OMS pour le VHC » (NIBSC, Royaume-Uni, code 18/184) par un facteur de conversion permettant de quantifier le VHC en unité internationale/mL (UI/mL).

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

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

• HCV - ELITE Positive Control

Ce composant contient le sous-composant **HCV Positive Control**, une solution stabilisée d'ADN plasmidique contenant la région amplifiée de l'UTR 5' du VHC à un **titre connu**. Le **HCV Positive Control** doit être utilisé avec le **HCV ELITE MGB Mix** sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** afin de construire des graphiques de contrôle pour la vérification du système (lot du produit et instrument).

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

• HCV Internal Control

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

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

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

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 la PCR en temps réel dans un tube doté d'un capuchon NATUREL | 4 x 600 µL | - |
| | RT EnzymeMix réf. RTS003-RT | Enzymes pour la transcription inverse dans un tube doté d'un capuchon avec un insert NOIR | 2 x 20 µL | - |
| 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 NATUREL | 8 x 160 µL | - |

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

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

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

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

AUTRES PRODUITS REQUIS

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

| Instruments et logiciels | Produits et réactifs |
|--|--|
| <p>ELITE InGenius(ELITechGroup S.p.A., EG SpA réf. INT030)</p> <p>ELITE InGenius Software version 1.3.0.17 (ou versions ultérieures)</p> <p>HCV ELITE_PC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif</p> <p>HCV ELITE_NC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif</p> <p>HCV ELITE_STD, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs</p> <p>HCV ELITE_PL_600_50, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma</p> <p>HCV ELITE_Se_600_50, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sérum</p> | <p>ELITE InGenius SP 1000 (EG SpA, réf. INT033SP1000)</p> <p>ELITE InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, réf. INT032CS)</p> <p>ELITE InGenius PCR Cassette (EG SpA, réf. INT035PCR)</p> <p>300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., réf. TF-350-L-R-S), avec le ELITE InGenius uniquement</p> <p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Suisse, réf. 30000631), avec le ELITE BeGenius uniquement</p> <p>ELITE InGenius® Waste Box (EG SpA, réf. F2102-000)</p> |
| <p>ELITE BeGenius (EG SpA, réf. INT040)</p> <p>ELITE BeGenius Software version 2.1.0. (ou versions ultérieures)</p> <p>HCV ELITE_Be_PC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif</p> <p>HCV ELITE_Be_NC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif</p> <p>HCV ELITE_Be_STD, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs</p> <p>HCV ELITE_Be_PL_600_50, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma</p> <p>HCV ELITE_Be_Se_600_50, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sérum</p> | |

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

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

Avertissements et précautions d'ordre général

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

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

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Porter des vêtements et des gants de protection appropriés et se protéger les yeux et le visage.
Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.
Ne pas manger, boire, fumer ou appliquer de produits cosmétiques dans les zones de travail.
Se laver soigneusement les mains après toute manipulation des échantillons et des réactifs.
Éliminer les réactifs restants et les déchets conformément aux réglementations en vigueur.
Lire attentivement toutes les instructions indiquées avant d'exécuter le test.
Lors de l'exécution du test, suivre les instructions fournies avec le produit.
Ne pas utiliser le produit au-delà de la date de péremption indiquée.
Utiliser uniquement les réactifs fournis avec le produit et ceux recommandés par le fabricant.
Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.
Ne pas utiliser de réactifs commercialisés par d'autres fabricants.

Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

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

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

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

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

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

Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

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

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES**Échantillons**

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

| Échantillon | Exigences de prélèvement | Conditions de transport/conservation | | | |
|---------------|--------------------------|--------------------------------------|-----------|-------------|-------------|
| | | +16/+26 °C (température ambiante) | +2/+8 °C | -20 ± 10 °C | -70 ± 15 °C |
| Plasma | EDTA ou ACD | ≤ 1 jour | ≤ 3 jours | ≤ 1 mois | ≤ 6 mois |
| Sérum | - | ≤ 1 jour | ≤ 5 jours | ≤ 1 mois | ≤ 6 mois |

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

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

Protocoles de test pour le HCV ELITE MGB Kit

| Échantillon | Instrument | Nom du protocole de test | Rapport | Caractéristiques |
|-------------|-----------------------|-------------------------------|-------------------------------------|--|
| Plasma | ELITE InGenius | HCV ELITE_PL_600_50 | Positif/copies/mL/ UI/mL/Négatif | Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1,7 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL |
| | ELITE BeGenius | HCV ELITE_Be_PL_600_50 | Positif/UI/mL/copies/mL/Négatif | Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL |
| Sérum | ELITE InGenius | HCV ELITE_Se_600_50 | Positif/copies/mL/ UI/mL/Négatif | Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1,7 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL |
| | ELITE BeGenius | HCV ELITE_Be_Se_600_50 | 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 |

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

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

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

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

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

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

Calibrateurs et contrôles de la PCR

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

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

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

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

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

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

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

Contrôles de qualité

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

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

PROCÉDURE AVEC LE ELITE InGenius

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

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

ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

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

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

ÉTAPE 2 - Paramétrage de la session d'analyse

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

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

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

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

Avant de paramétrer une analyse :

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

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

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

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

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

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

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

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

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

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

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

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

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

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

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

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

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

ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

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

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

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

Le **ELITE InGenius** génère les résultats à l'aide du **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,
- C. Validation des résultats de l'échantillon,
- D. Rapport des résultats de l'échantillon.

A. Validation de la courbe d'étalonnage

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

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

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

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

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

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

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

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

Le **ELITE InGenius Software** traite les résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif et génère des Control Charts (Graphiques de contrôle). Quatre résultats de Contrôle positif et de Contrôle négatif

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

approuvés sont utilisés pour configurer le graphique de contrôle initial. Pour les contrôles ultérieurs, les résultats sont analysés par le logiciel pour s'assurer que les performances du système sont conformes aux critères d'acceptation, indiqués dans les tracés du graphique de contrôle. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

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

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

C. Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELITE InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible (canal **HCV**) et le Contrôle interne (Internal Control) (canal **IC**) avec les paramètres de protocole de test (Assay Protocol) **HCV ELITE_PL_600_50** et **HCV ELITE_Se_600_50**. Les valeurs Ct des cibles résultantes sont converties en concentration.

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

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

| | |
|-------------------------------|---------------|
| 1) Courbe d'étalonnage | Statut |
| HCV Q-PCR Standard | 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 le **ELITE InGenius Software** en utilisant les paramètres du protocole de test (Assay Protocol). Les messages des résultats possibles d'un échantillon sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

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

| 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 ; sa concentration est celle affichée. |
| HCV:RNA Detected, quantity below "LLoQ" copies/mL or IU/mL (VHC:ARN détecté, quantité inférieure à « LLoQ » copies/mL ou UI/mL) | L'ARN du VHC a été détecté dans l'échantillon ; sa concentration est 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 à « ULoQ » copies/mL ou UI/mL) | L'ARN du VHC a été détecté dans l'échantillon ; sa concentration est 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 à « LoD » copies/mL ou UI/mL) | L'ARN du VHC n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARN cible ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test. |
| Invalid-Retest Sample (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon) | Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Contrôle interne (en raison, par exemple, d'une extraction incorrecte, d'un transfert d'inhibiteurs). Le test doit être répété. |

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

S'il reste un volume d'éluat suffisant, l'éluat peut être à nouveau testé (pur ou dilué), par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR seulement). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'un nouvel échantillon en utilisant le mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) (voir la section « Problèmes et solutions »)

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

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

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

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

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

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

D. Rapport des résultats de l'échantillon

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

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

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

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

PROCÉDURE AVEC LE ELITE BeGenius

La procédure d'utilisation du HCV ELITE MGB Kit avec le ELITE BeGenius comporte trois étapes :

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

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre le **ELITE BeGenius** en marche et se connecter en mode « **CLOSED** » (FERMÉ),
- dans le menu « Calibration » (Étalonnage) de la page Home (Accueil), vérifier que les calibrateurs (**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 un étalonnage comme décrit dans les sections suivantes,

dans le menu « Controls » (Contrôles) de la page Home (Accueil), vérifier que les contrôles de PCR (**HCV Positive Control**, **HCV Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **HCV PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **HCV PCR Mix**, analyser les contrôles de PCR comme décrit dans les sections suivantes,
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et en utilisant les protocoles de test (Assay Protocols) fournis par EG SpA (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).

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

ÉTAPE 2 – Paramétrage de la session d'analyse

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

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

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

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

Avant de paramétrer une analyse :

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

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

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

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

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

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

5.

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

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

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

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

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

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

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

| | A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]) | B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement]) |
|-----------|---|---|
| | | 50 µL. |
| 9 | Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »). | Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »). |
| 10 | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. |
| 11 | En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6. | En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6. |
| 12 | Charger les « Elution tubes » (Tubes d'éluion) dans le « Elution Rack » (Rack d'éluion) (les tubes d'éluion peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité). | Non applicable |
| 13 | Insérer le « Elution Rack » (Rack d'éluion) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure en utilisant la « Lane 2 » (L2). | Non applicable |
| 15 | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. | Non applicable |
| 16 | Charger le CPE et le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion). | Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion). |
| 17 | Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Pour chaque PCR Mix et/ou CPE, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions). | Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions). |
| 18 | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. |
| 19 | Vérifier les embouts dans le(s) « Tip Rack(s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire. | Vérifier les embouts dans le(s) « Tip Rack(s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire. |
| 20 | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. |
| 21 | Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage). | Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage). |
| 22 | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. |
| 23 | Charger le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITE InGenius SP 1000 » et les consommables d'extraction requis. | Non applicable |
| 24 | Fermer le tiroir de l'instrument. | Fermer le tiroir de l'instrument. |
| 25 | Appuyer sur « Start » (Début). | Appuyer sur « Start » (Début). |

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

| | C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement]) | D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement]) |
|----|--|--|
| 1 | Décongeler les tubes de Q-PCR Standard nécessaires (Cal1 : Q-PCR Standard 10 ² , Cal2 : Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3 : Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4 : Q-PCR Standard 10 ⁵) pendant 30 minutes à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver le tube sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. | Décongeler les tubes de Contrôle positif à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Préparer le Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élution) fourni avec le ELITe InGenius SP 1000 Consumable Set. |
| 2 | Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil). | Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil). |
| 3 | Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation. | Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation. |
| 4 | Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement). | Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement). |
| 5 | Charger les tubes de Q-PCR Standard dans le « Elution Rack » (Rack d'élution). | Charger les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif dans le « Elution Rack » (Rack d'élution). |
| 6 | Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions). | Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions). |
| 7 | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. |
| 8 | Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 600 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL. | Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 600 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL. |
| 9 | Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »). | Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »). |
| 10 | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. |
| 11 | Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution). | Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution). |
| 12 | Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) de la « Cooler Unit ». Pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions). | Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) de la « Cooler Unit ». Pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions). |
| 13 | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. |
| 14 | Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire. | Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire. |
| 15 | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. |
| 16 | Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage). | Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage). |
| 17 | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. | Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre. |
| 18 | Fermer le tiroir de l'instrument. | Fermer le tiroir de l'instrument. |
| 19 | Appuyer sur « Start » (Début). | Appuyer sur « Start » (Début). |

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

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

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

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

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

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

ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

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

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

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

Le **ELITE BeGenius** génère les résultats à l'aide du **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,
- C. Validation des résultats de l'échantillon,
- D. Rapport des résultats de l'échantillon.

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

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du test a été déterminée sur l'instrument ELITE InGenius en testant un panel d'échantillons de plasma ACD négatifs pour le VHC dopés avec un matériel de référence certifié du VHC (6^e étalon international de l'OMS, NIBSC). Une analyse de régression des probits a été réalisée sur les résultats, et la LoD a été estimée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 %.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

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

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

La LoD, exprimée en copies/mL pour le plasma 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 ACD avec le ELITE InGenius | | | |
|--|-----|--------------------------------|-------------------|
| Cible | LoD | Intervalle de confiance à 95 % | |
| | | Limite inférieure | Limite supérieure |
| VHC | 11 | 8 | 20 |

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

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

Équivalence des matrices : plasma EDTA versus plasma ACD et sérum

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

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

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

| Échantillon | N | Positif | Négatif | PCN | % CV Ct du Contrôle Interne | % CV Ct globale du Contrôle Interne |
|-------------|----|---------|---------|-------|-----------------------------|-------------------------------------|
| Plasma EDTA | 30 | 0 | 30 | 100 % | 0,89 | 0,95 |
| Plasma ACD | 30 | 0 | 30 | | 1,02 | |

| Échantillon | N | Positif | Négatif | PCN | % CV Ct du VHC | % CV Ct globale du VHC |
|-------------|----|---------|---------|-------|----------------|------------------------|
| Plasma EDTA | 30 | 30 | 0 | 100 % | 0,90 | 1,11 |
| Sérum | 30 | 30 | 0 | | 1,28 | |

Pour 30 échantillons dopés avec un matériel de référence certifié (6th étalon international de l'OMS pour le VHC, NIBSC), le pourcentage de concordance positive (PCP) et le coefficient de variation (% CV) des valeurs Ct du VHC ont été évalués.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

| Échantillon | N | Positif | Négatif | PCP | % CV Ct du VHC | % CV Ct globale du VHC |
|-------------|----|---------|---------|-------|----------------|------------------------|
| Plasma EDTA | 30 | 30 | 0 | 100 % | 1,96 | 1,79 |
| Plasma ACD | 30 | 30 | 0 | | 1,60 | |

| Échantillon | N | Positif | Négatif | PCP | % CV Ct du VHC | % CV Ct globale du VHC |
|-------------|----|---------|---------|-------|----------------|------------------------|
| Plasma EDTA | 30 | 30 | 0 | 100 % | 1,84 | 1,81 |
| Sérum | 30 | 30 | 0 | | 1,77 | |

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

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

Plage de mesure linéaire

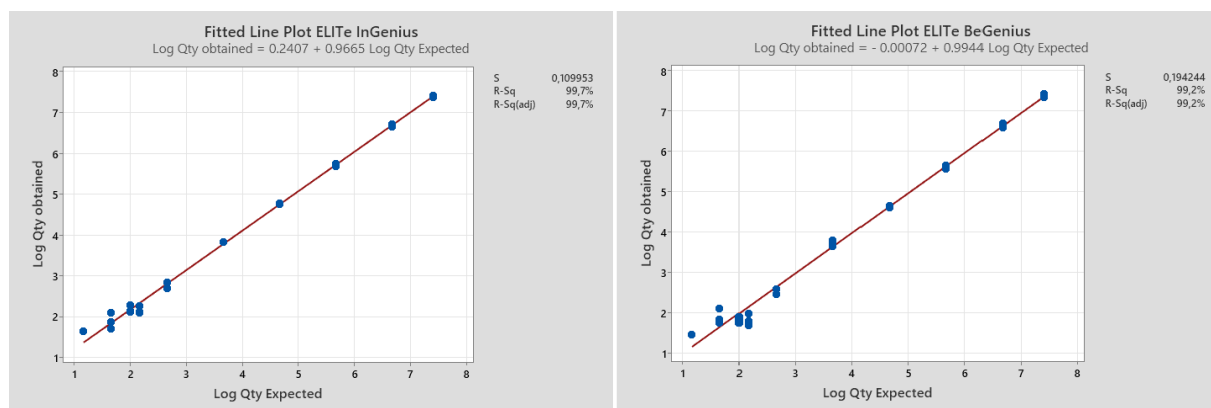
La plage de mesure linéaire du test a été déterminée en association avec des échantillons de plasma sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius en utilisant un panel de dilutions d'un matériel de référence du VHC (AcroMetrix) dans des échantillons de plasma EDTA négatifs.

Les résultats sont présentés sur les figures suivantes.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING



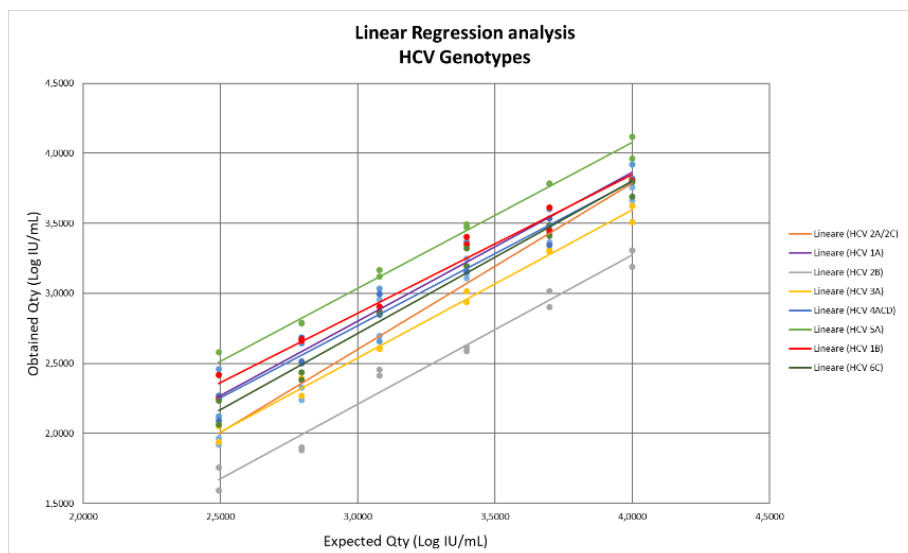
La plage de mesure linéaire en copies/mL pour le plasma EDTA est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué à la section suivante.

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

| Plage de mesure linéaire pour le HCV ELITE MGB Kit avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius | |
|--|----------------------|
| Limite inférieure | Limite supérieure |
| 26 UI/mL | 25000001 UI/mL |
| 11 copies/mL | 10 416 667 copies/mL |

Pour les principaux génotypes du VHC (1, 2, 3, 4, 5, 6), la linéarité de quantification a été vérifiée par une analyse d'échantillons de plasma EDTA négatifs dopés avec un matériel de référence du VHC (SeraCare).

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



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 $\pm 0,5$ 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, les mêmes échantillons ont également été sous-estimés par le test « cobas® HCV for use on the 6800 Systems » (Roche Diagnostics).

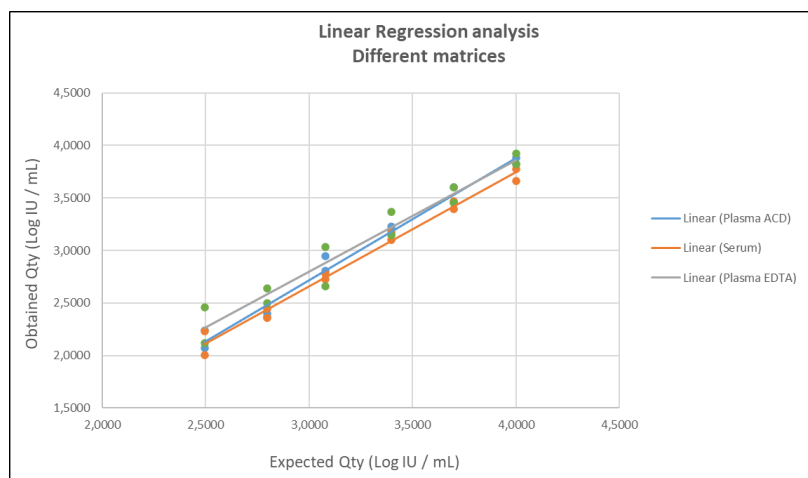
La linéarité du test a été vérifiée par une analyse d'échantillons de plasma EDTA négatifs, de plasma ACD négatifs et de sérum négatifs dopés avec un matériel de référence du VHC (6^e étalon international de l'OMS, NIBSC).

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 vérifiée pour le plasma EDTA, le plasma ACD et le sérum en générant des résultats quantitatifs à $\pm 0,5$ Log UI/mL et un R2 de 0,950, 0,984 et 0,987, respectivement.

Incertitude de la courbe d'étalonnage

La valeur d'incertitude de la courbe d'étalonnage a été calculée en combinant les erreurs aléatoires (EC) de toutes les quantifications de niveau et en multipliant le résultat par le facteur de couverture $k = 2$ (incertitude combinée élargie). Celle-ci est de 0,1416 Log copies/réaction.

| Niveaux de la courbe d'étalonnage | Théorique | EC | Incertitude combinée élargie |
|-----------------------------------|---------------------|--------|------------------------------|
| | Log copies/réaction | | |
| HCV Standard 10^5 | 5,0000 | 0,0652 | 0,1416 |
| HCV Standard 10^4 | 4,0000 | 0,0641 | |
| HCV Standard 10^3 | 3,0000 | 0,0489 | |
| HCV Standard 10^2 | 2,0000 | 0,0964 | |

Inclusivité : efficacité de détection et de quantification de différents génotypes

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

L'inclusivité du test a été vérifiée en testant trois panels de matériels de référence du VHC (Seracare, AccuTrak, Qnostics) à 3 x la LoD.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

| AccuTrak HCV RNA Genotype Performance Panel (SeraCare) | | |
|---|-----------|-------------|
| ID de l'échantillon | Pos./Rép. | Résultat |
| VHC 1a | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 1b | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 2a/2c | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 2b | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 3a | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 4acd | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 5a | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 6c | 3/3 | VHC détecté |
| HCV Genotype Evaluation Panel (Qnostics) | | |
| ID de l'échantillon | Pos./Rép. | Résultat |
| VHC 1a | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 1b | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 2b | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 3a | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 4a | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 5a | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 6a | 3/3 | VHC détecté |
| Non WHO Reference Material 4th HCV RNA Genotype Panel (NIBSC) | | |
| ID de l'échantillon | Pos./Rép. | Résultat |
| VHC 1a | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 1b | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 2i | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 3a | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 4r | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 5a | 3/3 | VHC détecté |
| VHC 6I | 3/3 | VHC détecté |

Tous les échantillons ont été correctement détectés comme positifs et quantifiés à $\pm 0,5$ Log à l'aide du HCV ELITE MGB® Kit sur le ELITE InGenius.

Marqueurs potentiellement interférents : réactivité croisée

La réactivité croisée potentielle du test exercée par des organismes non souhaitables qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques a été évaluée par une analyse *in silico*. L'analyse a montré une absence d'homologie significative avec d'autres organismes non souhaitables (virus, bactéries, protozoaires et champignons). On ne s'attend donc à aucune réactivité croisée.

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| ID de l'échantillon | Pos./Rép. | Résultat |
|---------------------|-----------|---------------------------|
| VIH-1 | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| VIH-2 | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| HTLVI | 0/3 | Aucune réactivité croisée |
| HTLVII | 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 |

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

| ID de l'échantillon | Pos./Rép. | Résultat |
|------------------------------|-----------|---------------------------|
| 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 |
| VNO (NIBSC) | 0/12 | Aucune réactivité croisée |
| VNO (ATCC) | 0 / 3 | Aucune réactivité croisée |
| VNO (Vircell) | 0 / 5 | Aucune réactivité croisée |
| DV1 | 0 / 5 | Aucune réactivité croisée |
| DV2 | 0 / 5 | Aucune réactivité croisée |
| DV3 (Vircell) | 0 / 5 | Aucune réactivité croisée |
| DV3 (ATCC) | 0 / 3 | Aucune réactivité croisée |
| DV4 | 0 / 5 | Aucune réactivité croisée |
| Yellow Fever Virus | 0 / 5 | Aucune réactivité croisée |
| Zika Virus Asian | 0 / 5 | Aucune réactivité croisée |
| Zika Virus | 0 / 5 | Aucune réactivité croisée |
| Chikungunya virus | 0 / 5 | Aucune réactivité croisée |

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

Marqueurs potentiellement interférents : inhibition

L'inhibition potentielle du test exercée par des organismes non souhaitables qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques a été évaluée par l'analyse de panels d'organismes non souhaitables (ATCC, NIBSC, ZeptoMetrix) à 3 x la LoD.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

| ID de l'échantillon | VHC Pos./Rép. | Résultat |
|------------------------------|---------------|---------------------|
| VIH-1 | 3/3 | Aucune interférence |
| VIH-2 | 3/3 | Aucune interférence |
| HTLVI | 3/3 | Aucune interférence |
| HTLVII | 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 |

Tous les organismes potentiellement interférents testés n'ont montré aucune inhibition de la détection et la quantification de la cible VHC à l'aide du HCV ELITE MGB Kit.

Substances potentiellement interférentes : inhibition

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

| Échantillon | VHC Pos./Rép. | Résultat |
|-------------------------------------|---------------|---------------------|
| Bilirubine | 3/3 | Aucune interférence |
| Triglycérides | 3/3 | Aucune interférence |
| Concentration élevée d'hémoglobine | 1/3 | Interférence |
| Concentration modérée d'hémoglobine | 3/3 | Interférence |
| Faible concentration d'hémoglobine | 3/3 | Aucune interférence |
| Héparine | 0/3 | Interférence |
| EDTA | 3/3 | Aucune interférence |
| Ganciclovir | 3/3 | Aucune interférence |
| Azithromycine | 3/3 | Aucune interférence |
| Sofosbuvir | 3/3 | Aucune interférence |
| Pibrentasvir | 3/3 | Aucune interférence |
| Glécaprévir | 3/3 | Aucune interférence |
| Ribavirine | 3/3 | Aucune interférence |
| Velpatasvir | 3/3 | Aucune interférence |

La majorité des substances testées n'entraînent aucune interférence avec l'amplification du VHC ou du contrôle interne.

Remarque : on considère que l'hémoglobine à une concentration modérée (1,7-2,3 g/dL) entraîne une interférence car la cible VHC ne peut pas être quantifiée avec des valeurs de quantité logarithmique cibles moyennes comprises dans l'intervalle exigé par les directives internationales après l'addition ou la soustraction de la valeur ESM en tant qu'erreur de mesure.

Il a été confirmé que l'héparine et l'hémoglobine à des concentrations élevées (3,4-4,6 g/dL) étaient capables d'inhiber l'amplification du VHC ; en revanche, en raison de la valeur seuil Ct du Contrôle interne (Ct de l'IC < 31), les résultats des échantillons étaient « non valides » et pas « faux négatifs » dans la majorité des cas.

Contamination croisée

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

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

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

Taux de défaillance de l'ensemble du système

Le taux de défaillance de l'ensemble du système pour le test a été évalué sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius en testant un panel d'échantillons dopés avec un matériel de référence certifié (6^e étalon international de l'OMS, NISBC) à une concentration de 3 x la LoD (environ 78 UI/mL).

Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants.

| ELITE InGenius - Taux de défaillance de l'ensemble du système | | | | | |
|---|-----|------------------|---------|---------|--|
| Échantillons | N | UI/mL théoriques | Positif | Négatif | Taux de défaillance de l'ensemble du système |
| Plasma EDTA dopé avec le VHC | 100 | 78 | 100 | 0 | 0 % |
| Plasma ACD dopé avec le VHC | 30 | 78 | 30 | 0 | 0 % |
| Sérum dopé avec le VHC | 30 | 78 | 30 | 0 | 0 % |

| ELITE BeGenius - Taux de défaillance de l'ensemble du système | | | | | |
|---|-----|------------------|---------|---------|--|
| Matrice | N | UI/mL théoriques | Positif | Négatif | Taux de défaillance de l'ensemble du système |
| Plasma EDTA dopé avec le VHC | 100 | 78 | 100 | 0 | 0 % |

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

Répétabilité

La répétabilité intra-session et inter-sessions du test a été évaluée sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de plasma, incluant un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VHC (6^e étalon international de l'OMS, NIBSC).

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

| Répétabilité intra-session avec le ELITE InGenius (Jour 1) | | | | | | | | |
|--|---|----------|----------|----------|-----------------|------------------|------|------|
| Échantillon | N | VHC | | | | Contrôle interne | | |
| | | Ct moyen | Ct moyen | Ct moyen | Concordance (%) | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatif | 8 | - | - | - | 100 % | 27,43 | 0,21 | 0,78 |
| 3 x la LoD | 8 | 37,28 | 0,34 | 0,92 | 100 % | | | |
| 10 x la LoD | 8 | 35,37 | 0,43 | 1,23 | 100 % | | | |

| Répétabilité intra-session avec le ELITE BeGenius (Jour 1) | | | | | | | | |
|--|---|----------|----------|----------|-----------------|------------------|------|------|
| Échantillon | N | VHC | | | | Contrôle interne | | |
| | | Ct moyen | Ct moyen | Ct moyen | Concordance (%) | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatif | 8 | - | - | - | 100 % | 27,87 | 0,30 | 1,08 |
| 3 x la LoD | 8 | 37,83 | 1,15 | 3,05 | 100 % | | | |
| 10 x la LoD | 8 | 35,45 | 0,30 | 0,85 | 100 % | | | |

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

| Répétabilité inter-sessions avec le ELITE InGenius (Jour 1 + Jour 2) | | | | | | | | |
|--|----|----------|----------|----------|-----------------|------------------|------|------|
| Échantillon | N | VHC | | | | Contrôle interne | | |
| | | Ct moyen | Ct moyen | Ct moyen | Concordance (%) | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatif | 16 | - | - | - | 100 % | 27,41 | 0,18 | 0,66 |
| 3 x la LoD | 16 | 37,37 | 0,67 | 1,78 | 100 % | | | |
| 10 x la LoD | 16 | 35,40 | 0,43 | 1,22 | 100 % | | | |

| Répétabilité inter-sessions avec le ELITE BeGenius (Jour 1 + Jour 2) | | | | | | | | |
|--|----|----------|----------|----------|-----------------|------------------|------|------|
| Échantillon | N | VHC | | | | Contrôle interne | | |
| | | Ct moyen | Ct moyen | Ct moyen | Concordance (%) | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatif | 16 | - | - | - | 100 % | 27,89 | 0,31 | 1,10 |
| 3 x la LoD | 16 | 37,68 | 0,25 | 2,31 | 100 % | | | |
| 10 x la LoD | 16 | 35,54 | 0,10 | 0,96 | 100 % | | | |

Dans le test de répétabilité, le HCV ELITE MGB Kit a correctement détecté la cible et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 3,05 %.

Reproductibilité

La reproductibilité inter-sites du test a été évaluée sur le ELITE InGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de plasma négatifs ou dopés avec le VHC (6^e étalon international de l'OMS, NIBSC).

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

| Reproductibilité inter-sites avec le ELITE InGenius | | | | | | | | |
|---|-----|-------------|------|------|-----------------|------------------|----------|------------|
| Échantillon | VHC | | | | | Contrôle interne | | |
| | N | Ct moyen | EC | % CV | Concordance (%) | Moyenne Ct IC | EC Ct IC | % CV Ct IC |
| Négatif | 24 | Indéterminé | - | - | 100 % | 28,15 | 0,58 | 2,06 |
| 3 x la LoD | 24 | 36,89 | 0,55 | 1,48 | 100 % | | | |
| 10 x la LoD | 24 | 35,03 | 0,46 | 1,32 | 100 % | | | |

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

Dans le test de reproductibilité inter-sites, le HCV ELITE MGB Kit a détecté la cible et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 1,48 %.

La reproductibilité du test a été évaluée sur les ELITE BeGenius et ELITE InGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de plasma négatifs ou dopés avec le VHC (6^e étalon international de l'OMS, NIBSC).

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

| Reproductibilité inter-instruments avec le ELITE InGenius | | | | | | | | |
|---|-----|-------------|------|------|-----------------|------------------|------|------|
| Échantillon | VHC | | | | | Contrôle interne | | |
| | N | Ct moyen | EC | % CV | Concordance (%) | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatif | 24 | Indéterminé | - | - | 100 % | 27,69 | 0,34 | 1,24 |
| 3 x la LoD | 24 | 37,03 | 0,53 | 1,44 | 100 % | | | |
| 10 x la LoD | 24 | 33,97 | 0,38 | 1,11 | 100 % | | | |

| Reproductibilité inter-instruments avec le ELITE BeGenius | | | | | | | | |
|---|-----|-------------|------|------|-----------------|------------------|------|------|
| Échantillon | VHC | | | | | Contrôle interne | | |
| | N | Ct moyen | EC | % CV | Concordance (%) | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatif | 24 | Indéterminé | - | - | 100 % | 28,52 | 0,61 | 2,13 |
| 3 x la LoD | 23 | 38,00 | 0,71 | 1,86 | 100 % | | | |
| 10 x la LoD | 24 | 36,44 | 0,67 | 1,84 | 100 % | | | |

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

| Reproductibilité inter-lots avec le ELITE InGenius | | | | | | | | |
|--|-----|-------------|------|------|-----------------|------------------|------|------|
| Échantillon | VHC | | | | | Contrôle interne | | |
| | N | Ct moyen | EC | % CV | Concordance (%) | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatif | 48 | Indéterminé | - | - | 100 % | 27,70 | 0,33 | 1,20 |
| 3 x la LoD | 48 | 37,32 | 0,64 | 1,72 | 100 % | | | |
| 10 x la LoD | 48 | 35,44 | 0,38 | 1,07 | 100 % | | | |

| Reproductibilité inter-lots avec le ELITE BeGenius | | | | | | | | |
|--|-----|-------------|------|------|-----------------|------------------|------|------|
| Échantillon | VHC | | | | | Contrôle interne | | |
| | N | Ct moyen | EC | % CV | Concordance (%) | Ct moyen | EC | % CV |
| Négatif | 48 | Indéterminé | - | - | 100 % | 28,20 | 0,40 | 1,41 |
| 3 x la LoD | 48 | 37,60 | 0,71 | 1,88 | 100 % | | | |
| 10 x la LoD | 48 | 35,78 | 0,48 | 1,33 | 100 % | | | |

Dans le test de reproductibilité inter-instruments et inter-lots, le HCV ELITE MGB Kit a correctement détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 1,88 %.

Facteur de conversion en unités internationales

Le facteur de conversion pour indiquer les résultats quantitatifs en unités internationales/mL à partir d'une valeur en copies/mL a été calculé en utilisant le matériel de référence certifié et étalonné « 6^e étalon international de l'OMS pour le VHC » (NIBSC).

Le facteur de conversion a été déterminé à 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 | Moyenne UI/mL | Moyenne Log UI/mL | |
| 31 623 | 4,5000 | 27 | 13 233 | 31 254 | 4,4807 | +0,0193 |
| 10000 | 4,0000 | 27 | 4 482 | 10 595 | 4,0133 | +0,0133 |
| 3162 | 3,5000 | 27 | 1414 | 3 342 | 3,5091 | -0,0091 |
| 1000 | 3,0000 | 27 | 439 | 1036 | 2,9969 | +0,0031 |

HCV ELITE MGB® Kit

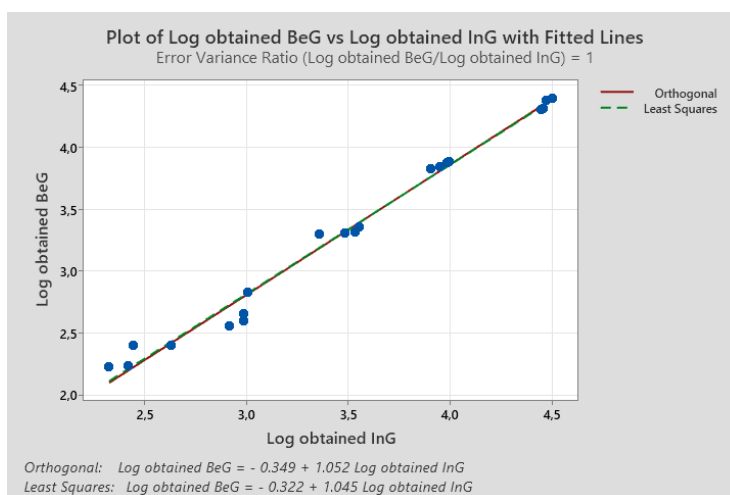
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

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

Le facteur de conversion pour indiquer les résultats quantitatifs en unités internationales/mL à partir d'une valeur en copies/mL a été vérifié sur les instruments **ELITE BeGenius** et **ELITE InGenius** en utilisant le matériel de référence certifié et étalonné (6^e étalon international de l'OMS, NIBSC).

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



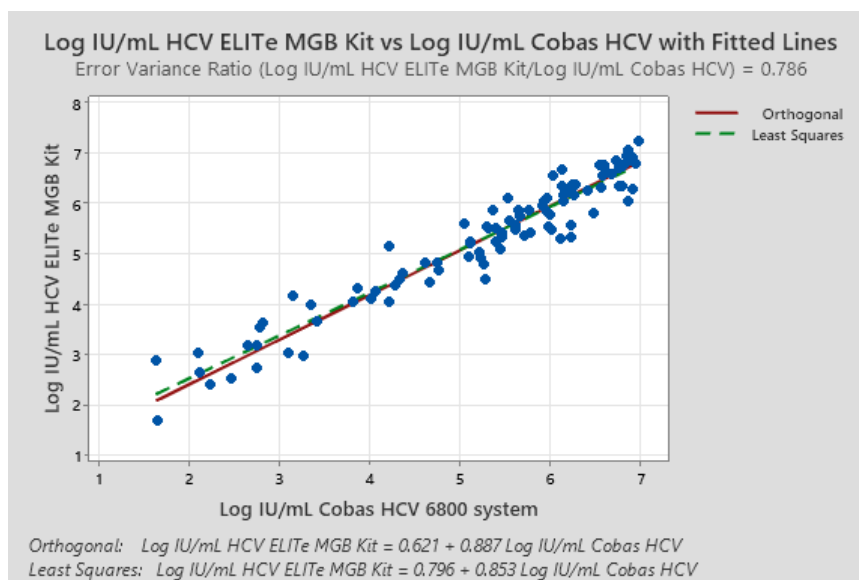
L'analyse de régression orthogonale génère une ordonnée à l'origine de -0,3494 (IC à 95 % : -0,5546 ; -0,1442) et une pente de 1,0523 (IC à 95 % : 0,9943 ; 1,1103). L'analyse de régression linéaire génère un R^2 de 0,985.

Sensibilité diagnostique : corrélation des méthodes

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

L'étude de corrélation a été réalisée dans un seul site sur 95 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA positifs pour l'ARN du VHC en utilisant le « cobas® HCV for use on the 6800 System » à titre de comparaison.

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



HCV ELITe MGB® Kit

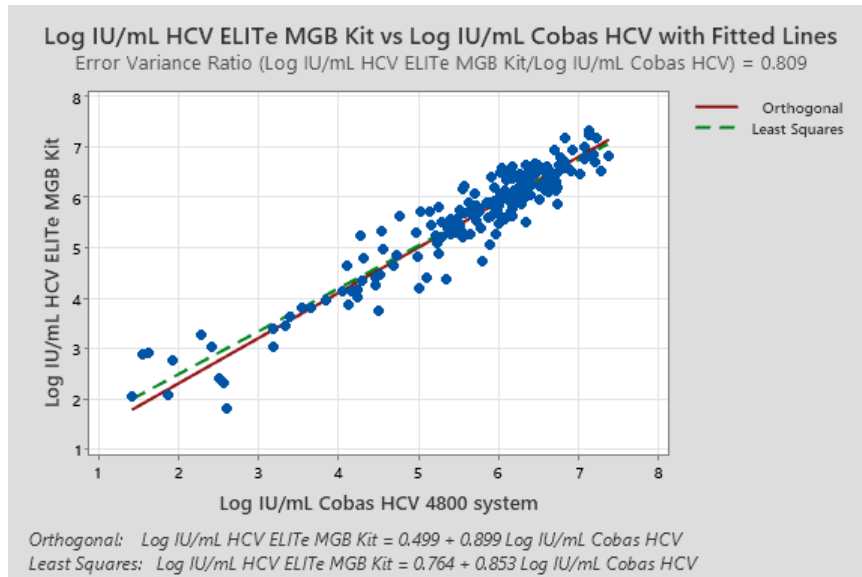
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN et la PCR en temps réel

REF RTK601ING

Dans ce test, l'analyse de régression de Deming générerait une pente de 0,887 (IC à 95 % : 0,836 ; 0,938) et une ordonnée à l'origine de 0,621 (IC à 95 % : 0,345 ; 0,896). L'analyse de régression linéaire générerait un R^2 de 0,926.

L'étude de corrélation a été réalisée dans deux autres sites sur 184 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA et de sérum positifs pour l'ARN du VHC en utilisant le « cobas® HCV for use on the 4800 System » à titre de comparaison.

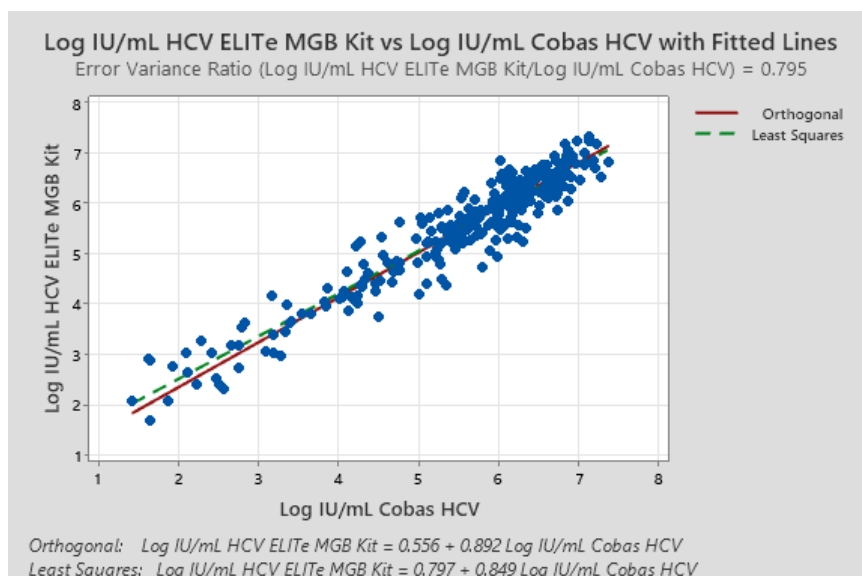
Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



Dans ce test, l'analyse de régression de Deming générerait une pente de 0,899 (IC à 95 % : 0,856 ; 0,943) et une ordonnée à l'origine de 0,499 (IC à 95 % : 0,245 ; 0,753). L'analyse de régression linéaire générerait un R^2 de 0,899.

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

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



Dans ce test, l'analyse de régression de Deming générerait une pente de 0,892 (IC à 95 % : 0,858 ; 0,926) et une ordonnée à l'origine de 0,556 (IC à 95 % : 0,363 ; 0,749). L'analyse de régression linéaire générerait un R^2 de 0,905.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

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

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

| Échantillons de plasma EDTA et de sérum négatifs pour l'ARN du VHC | N | Positif | Négatif | Spécificité diagnostique |
|--|-----|---------|---------|--------------------------|
| Référence : cobas HCV for use on the 6800 System | 100 | 0 | 100 | 100 % |
| Référence : cobas HCV for use on the 4800 System | 222 | 5 | 217 | 97,7 % |
| Résultats regroupés | 322 | 5 | 317 | 98,4 % |

Cinq échantillons ont généré des résultats positifs discordants avec de faibles titres (4 échantillons sur 5 présentaient des titres inférieurs à la LoD du HCV ELITE MGB Kit et des méthodes de référence), qui peuvent générer des résultats positifs de manière aléatoire.

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

Remarque : les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et l'instrument sont présentés dans la Fiche technique du produit « HCV ELITE MGB® Kit », FTP601ING.

BIBLIOGRAPHIE

- P. Halfon et al. (2006) *J Clin Microbiology* 44: 2507 – 2511
K. Linnet et al. (2004) *Clin. Chem.* 50: 732 - 740.
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30.
WHO Prequalification of In Vitro Diagnostics Public Report (WHO PQ Public Report), number PQDx 0465-118-00, 03/2021, version 1,0.
<https://ltd.aruplab.com> (test number 3000572).
<https://mayocliniclabs.com> (Test ID: HCVQN).
H. H. Kessler et al. (2001) *J. Clin. Microb.* 39: 1788 - 1790.
K. Sener et al. (2010) *J. Clin. Lab. Analysis* 24: 134 - 138.
C. Baleriola et al. (2011) *J. Clin. Microbiol.* 49: 3163 – 3167
WHO (World Health Organization), 2018, Guidelines for the care and treatment of persons diagnosed with chronic hepatitis C virus infection.
CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 2020, CDC Recommendations for Hepatitis C Screening Among Adults — United States, 2020.
AASLD (American Association for the study of liver diseases) and IDSA (The Infectious Diseases Society of America), 2022, HCV Guidance: Recommendations for testing, managing and treating Hepatitis C.
EASL (European Association for the Study of the Liver), 2020, EASL recommendations on treatment of Hepatitis C 2020”, *Journal of Hepatology*.
Ministero della Salute, 2022, Linee di indirizzo Nazionali sui percorsi diagnostico terapeutici assistenziali per l'infezione da virus dell'epatite C.

HCV ELITE MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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 ACD et le sérum doit être obtenu à partir de sang total conservé à température ambiante ou à +2/+8 °C pendant 24 heures maximum.

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

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.

Actuellement, aucune donnée n'est disponible concernant les performances du produit avec d'autres échantillons cliniques tels que le sang total.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

D'éventuels polymorphismes, insertions ou délétions dans la région de l'ARN ciblée par les amorces

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

et les sondes du produit peuvent affecter la détection et la quantification de l'ARN cible.

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

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

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

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

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING**Réaction du Contrôle négatif non valide**

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

Réaction de l'échantillon non valide

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

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

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

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

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

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

LÉGENDE DES SYMBOLES

REF

Numéro de référence.



Limite supérieure de température.

LOT

Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).

IVD

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.



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

UDI

Identifiant unique de dispositif



Contenu suffisant pour « N » tests.



Consulter le mode d'emploi.

CONT

Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

AVIS AUX UTILISATEURS

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

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

HCV ELITe MGB® Kit

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

REF RTK601ING

NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

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

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

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

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

cobas® est une marque déposée de Roche Diagnostics.

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

HCV ELITe MGB® Kit utilisé en association avec les plateformes Genius series®



Attention, ce document est une version simplifiée du mode d'emploi officiel.
Se reporter au document complet avant utilisation : www.elitechgroup.com

Application

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

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

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

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

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



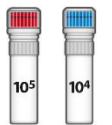


Séquence amplifiée

| Séquence | Gène | Fluorophore | Canal |
|------------------|----------------------|-------------|-------|
| Cible | Région UTR 5' du VHC | FAM | VHC |
| Contrôle interne | MS2 | AP525 | IC |

Matrices validées

- › Plasma EDTA ou plasma ACD
- › Sérum

Contenu du kit

| HCV ELITe MGB Mix | | HCV ELITe Standard | | HCV - ELITe Positive Control | HCV Internal Control |
|--|--|--|--|---|---|
|  x 4 |  x 2 |  x 1 | |  x 2 |  x 8 |
| HCV PCR Mix 4 tubes de 600 µL 24 réactions par tube 96 réactions par kit 5 cycles de congélation/décongélation | RT Enzyme Mix 2 tubes de 20 µL 48 réactions par tube 96 réactions par kit 10 cycles de congélation/décongélation | Calibrateurs prêts à l'emploi : 4 niveaux 1 jeu de 4 tubes de 160 µL 2 réactions par tube 2 réactions par kit 2 cycles de congélation/décongélation | | Contrôle positif prêt à l'emploi 2 tubes de 160 µL 4 réactions par tube 8 réactions par kit 4 cycles de congélation/décongélation | Contrôle interne prêt à l'emploi 8 tubes de 160 µL 12 extractions par tube 96 extractions par kit 6 cycles de congélation/décongélation |

Durée de conservation maximale : **18 mois**

Température de stockage : **-20 °C**

Autres produits requis non inclus dans le kit

- › Instrument ELITe InGenius : INT030
- › Instrument ELITe BeGenius : INT040
- › ELITe InGenius SP 1000 Extraction Cartridge : INT033SP1000
- › ELITe InGenius PCR Cassette : INT035PCR
- › ELITe InGenius SP200 Consumable Set : INT032CS
- › ELITe InGenius Waste Box : F2102-000
- › 300 µL Filter Tips Axygen : TF-350-L-R-S (ELITe InGenius uniquement)
- › 1000 µL Filter Tips Tecan : 30000631 (ELITe BeGenius uniquement)

Protocole avec les ELITe InGenius et ELITe BeGenius

| | | | |
|-----------------------------------|--------|---------------------------------|--------------------------------|
| › Volume d'échantillon | 600 µL | › Unité du résultat quantitatif | Unités internationales : UI/mL |
| › Volume de HCV CPE | 10 µL | › Facteur de conversion en UI | Copies : Copies/mL |
| › Volume d'élution total | 50 µL | › Fréquence des contrôles | 2,4 UI/copie |
| › Volume initial d'élution de PCR | 20 µL | › Fréquence de l'étalonnage | 15 jours |
| › Volume de PCR Mix complet | 20 µL | | 60 jours |

Performances avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius

| Matrice | Limite de détection | Sensibilité diagnostique : Corrélation des méthodes | Spécificité diagnostique |
|--|---------------------------------|---|---|
| Plasma/Sérum | 26 UI/mL 11 copies/mL | R² = 0,905 279 échantillons quantifiés | 98,4 % 317 échantillons confirmés/322 échantillons testés |
| Méthodes de référence : « cobas® HCV for use on the 4800 Systems » et « cobas® HCV for use on the 6800 Systems », Roche Diagnostics. | | | |

Préparation de l'échantillon

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

| Type d'échantillon | Conditions de transport/conservation | | | |
|-------------------------|--------------------------------------|-----------|-------------|-------------|
| | +16/+26 °C (température ambiante) | +2/+8 °C | -20 ± 10 °C | -70 ± 15 °C |
| Plasma prélevé sur EDTA | ≤ 1 jour | ≤ 3 jours | ≤ 1 mois | ≤ 6 mois |
| Sérum | ≤ 1 jour | ≤ 5 jours | ≤ 1 mois | ≤ 6 mois |

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

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

Procédures avec le ELITE InGenius

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

Avant l'analyse

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

4. Préparer le mélange réactionnel complet de la manière suivante

| 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 |

5. Agiter délicatement au vortex.
Centrifuger pendant 5 s.
Conserver le mélange réactionnel complet sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Ne pas l'exposer à la lumière directe.

Procédure 1 - Analyse complète : Extract + PCR (Extraction + PCR) (par ex. échantillons)

| | | |
|--|---|--|
| 1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile | 2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 1000 µL », élution : « 50 µL » | 3. Scanner les code-barres des échantillons à l'aide du lecteur de code-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon |
| 4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : HCV ELITE_PL_600_50 ou HCV ELITE_Se_600_50 | 5. Sélectionner la méthode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) et la position de l'échantillon : Extraction Tube (Tube d'extraction) | 6. Charger le mélange réactionnel complet et le Contrôle interne dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) |
| 7. Charger : la cassette de PCR, la cartouche d'extraction, le tube d'élution, la cassette à embouts, les racks de tubes d'extraction | 8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle | 9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats |

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

Procédure 2 - PCR Only (PCR seulement) (par ex. éluats, étalons, contrôles)

| | | |
|---|---|--|
| <p>1 à 4 : Suivre la Procédure 1 décrite ci-dessus (sélectionner les protocoles de test (Assay Protocols) : HCV ELITE_PC et HCV ELITE_NC ou HCV ELITE_STD)</p> | <p>5. Sélectionner la méthode « PCR Only » (PCR seulement) et définir la position de l'échantillon « Elution Tube » (Tube d'élution)</p> | <p>6. Charger le mélange réactionnel complet dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)</p> |
| <p>7. Charger : le rack de cassette de PCR et le rack de tubes d'élution avec les acides nucléiques extraits, les étalons ou les contrôles</p> | <p>8. Fermer le tiroir Démarrer le cycle</p> | <p>9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats</p> |

Procédures avec le ELITE BeGenius

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

Avant l'analyse

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

4. Préparer le mélange réactionnel complet de la manière suivante

| 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 |
| 13 ≤ N ≤ 18 | (N + 3) x 20 µL | (N + 3) x 0,3 µL |
| 19 ≤ N ≤ 23 | (N + 4) x 20 µL | (N + 4) x 0,3 µL |
| N = 24 | 580 µL | 8,7 µL |

5. Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s. Conserver le mélange réactionnel complet sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Ne pas l'exposer à la lumière directe.

Procédure 1 - Analyse complète : Extract + PCR (Extraction + PCR) (par ex. échantillons)

| | | |
|---|---|---|
| <p>1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile puis cliquer sur le mode d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR)</p> | <p>2. Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) avec les échantillons à code-barres dans la Cooler Unit. La lecture des code-barres est déjà active</p> | <p>3. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 600 µL », Éluat : « 50 µL »</p> |
| <p>4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : HCV ELITE_Be_PL_600_50 ou HCV ELITE_Be_Se_600_50</p> <p>Remarque : si une deuxième extraction est exécutée, répéter les étapes 2 à 4</p> | <p>5. Imprimer les étiquettes à code-barres pour les apposer sur les tubes d'élution vides. Charger les tubes dans le « Elution Rack » (Rack d'élution) et insérer ce dernier dans la Cooler Unit.</p> | <p>6. Charger le mélange réactionnel complet et le CPE dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.</p> |

| | | |
|---|---|--|
| 7. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) et le « Extraction Rack » (Portoir d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITE InGenius SP 1000 » et les consommables d'extraction requis. | 8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle | 9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats |
|---|---|--|

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

Procédure 2 - PCR Only (PCR seulement) (par ex. éluats, étalons, contrôles)

| | | |
|---|--|--|
| 1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile, puis cliquer sur le mode d'analyse « PCR Only » (PCR seulement) | 2. Charger les tubes à code-barres contenant les acides nucléiques extraits ou les étalons ou les contrôles dans le « Elution Rack » (Rack d'éluion) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit. | 3. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 600 µL », Éluat : « 50 µL » |
| 4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt (HCV ELITE_Be_PC et HCV ELITE_Be_NC ou HCV ELITE_Be_STD) | 5. Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent Rack » (Rack de réactifs) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit. | 6. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR). |
| 7. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle | 8. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats | |