



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

Offices: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11  
E. mail: [emd.support@elitechgroup.com](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
WEB site: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

## NOTICE of CHANGE dated 04/05/2022

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

### «HSV1/2 ELITe MGB<sup>®</sup> Kit» Ref. RTK403ING

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

- *Change of the Legal Manufacturer.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

### PLEASE NOTE



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



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



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



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



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

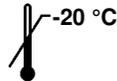


DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS

## HSV 1&2 ELITE MGB® Kit

réactifs pour l'amplification par PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK403ING



### TABLE DES MATIÈRES

|  |         |
|--|---------|
| APPLICATION                                  | page 1  |
| PRINCIPES DU TEST                            | page 2  |
| DESCRIPTION DU KIT                           | page 3  |
| MATÉRIEL FOURNI DANS LE KIT                  | page 3  |
| MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON INCLUS DANS LE KIT | page 3  |
| AUTRES PRODUITS REQUIS                       | page 4  |
| AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS                | page 4  |
| ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES                    | page 5  |
| PROCÉDURE                                    | page 6  |
| CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE              | page 12 |
| BIBLIOGRAPHIE                                | page 23 |
| LIMITES DE LA PROCÉDURE                      | page 24 |
| PROBLÈMES ET SOLUTIONS                       | page 25 |
| LÉGENDE DES SYMBOLES                         | page 26 |
| NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE      | page 27 |

### APPLICATION

Le produit «HSV 1&2 ELITE MGB® Kit» est un test de diagnostic *in vitro* qualitatif basé sur une réaction en chaîne par polymérase (PCR) en temps réel pour la détection et la différenciation de l'ADN du virus Herpes Simplex de type 1 et 2 (HSV1 et HSV2) dans des échantillons de lésions cutanées et muco-cutanées prélevés à l'écouvillon chez les patients présentant des signes et des symptômes d'une infection par le HSV1 ou HSV2.

Le produit est conçu pour faciliter le diagnostic différentiel des infections par le HSV1 et HSV2, en association avec les données cliniques du patient et d'autres résultats d'analyse de laboratoire.

## HSV 1&2 ELITE MGB® Kit

réactifs pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTK403ING

### PRINCIPES DU TEST

Le test consiste en une réaction d'amplification en temps réel multiplexe réalisée par le système ELITE InGenius, un système intégré et automatisé d'extraction, d'amplification, de détection et d'interprétation des résultats.

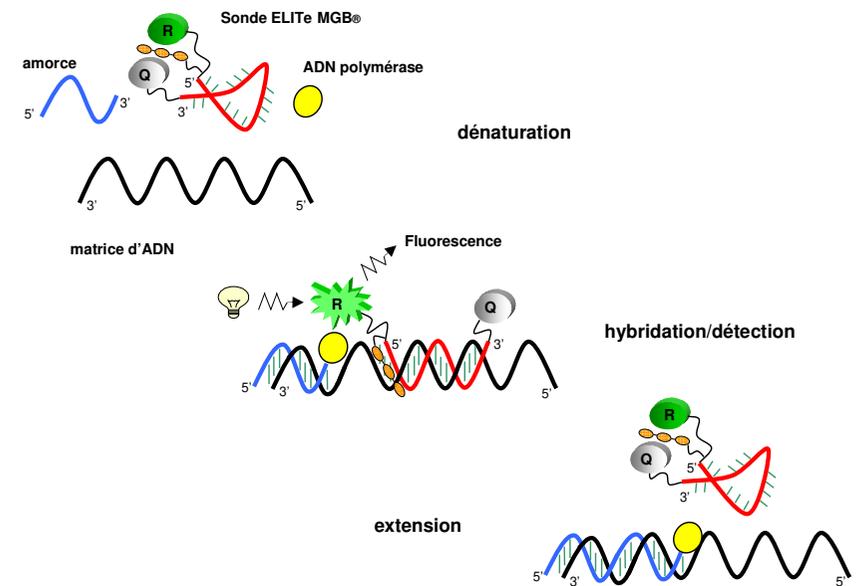
À partir d'ADN extrait de chaque échantillon à tester, différentes réactions d'amplification sont réalisées par le HSV 1&2 PCR Mix dans la cassette de PCR afin d'amplifier les cibles suivantes:

- **HSV1** (gène de la glycoprotéine D), détecté par la sonde spécifique dans le Canal HSV1 du système ELITE InGenius (Canal 4). La sonde spécifique au HSV1 est marquée par le fluorophore AP593, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent.
- **HSV2** (gène de la glycoprotéine G), détecté par la sonde spécifique dans le Canal HSV2 du système ELITE InGenius (Canal 1). La sonde spécifique au HSV2 est marquée par le fluorophore FAM, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent.
- **Contrôle interne** (séquence artificielle IC2), détecté par la sonde spécifique dans le Canal IC du système ELITE InGenius (Canal 2). La sonde spécifique à l'IC est marquée par le fluorophore AP525, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent.

Les sondes dotées de la technologie ELITE MGB® sont activées lorsqu'elles s'hybrident au produit spécifique de la réaction d'amplification. L'émission de la fluorescence est mesurée et enregistrée par l'instrument. À la fin du cycle d'amplification, les courbes de fluorescence sont analysées pour identifier les cycles seuils (Ct). L'interprétation des résultats permet de détecter la présence des agents pathogènes d'intérêt.

Le test a été validé avec l'instrument ELITE InGenius®, un système intégré et automatisé pour l'extraction, l'amplification et la détection des acides nucléiques.

L'image suivante illustre de manière synthétique le mécanisme d'activation et l'émission de la fluorescence de la sonde dotée de la technologie ELITE MGB®. Noter que la sonde n'est pas hydrolysée pendant le cycle d'amplification si bien qu'elle peut être utilisée pour l'analyse de la courbe de dissociation.



**DESCRIPTION DU KIT**

Le produit «**HSV 1&2 ELITE MGB® Kit**» fournit les composants suivants:

• **HSV 1&2 PCR Mix**

Un mélange d'amorces oligonucléotidiques et de sondes pour l'amplification en temps réel, dans une solution de stabilisation, aliquoté dans huit tubes à essai (capuchon JAUNE). Chaque tube contient **280 µl** de solution, un volume suffisant pour effectuer **12 tests** (traitement d'au moins 2 échantillons par session) en association avec le système **ELITE InGenius**.

• **HSV 1&2 Negative Control**

Eau exempte de DNase et RNase, pré-aliquotée dans deux tubes à essai (capuchon BLANC). Chaque tube contient **1800 µl** d'eau, un volume suffisant pour effectuer **8 sessions** (traitement de 200 µl dans une session intégrée) en association avec le système **ELITE InGenius**.

• **HSV 1&2 Positive Control**

Une solution tamponnée contenant les matrices d'ADN plasmidique pour le HSV1 et le HSV2, pré-aliquotée dans deux tubes à essai (capuchon ROUGE). Chaque tube contient **1800 µl** de solution, un volume suffisant pour effectuer **8 sessions** (traitement de 200 µl dans une session intégrée) en association avec le système **ELITE InGenius**.

• **HSV 1&2 Internal Control**

Une solution tamponnée contenant un phage M13 recombinant avec la séquence artificielle IC2 clonée dans le génome du phage, pré-aliquotée dans huit tubes à essai (capuchon NEUTRE). Chaque tube contient **160 µl** de solution, un volume suffisant pour effectuer **12 extractions** (traitement de 10 µl par session) en association avec le système **ELITE InGenius**.

• **Sample Dilution Buffer**

Tampon de dilution d'échantillons destiné à diluer les échantillons lorsque les échantillons à tester sont trop concentrés, comme indiqué par le logiciel du système **ELITE InGenius** (Erreur 30103). Le tampon de dilution d'échantillons est une solution tamponnée, pré-aliquotée dans huit tubes à essai (capuchon MARRON). Chaque tube contient **1000 µl** de solution.

Le kit permet d'effectuer **96 tests à l'aide du système ELITE InGenius**, en incluant les contrôles.

**MATÉRIEL FOURNI DANS LE KIT**

| Boîte | Composant                | Description  | Quantité    | Classification des risques |
|-------|--------------------------|--|-------------|----------------------------|
| 1     | HSV 1&2 PCR Mix          | mélange réactionnel pour le HSV1&2<br>Capuchon JAUNE | 8 x 280 µl  | -                          |
|       | HSV 1&2 Negative Control | eau exempte de DNase et RNase<br>Capuchon BLANC      | 2 x 1800 µl | -                          |
| 2     | HSV 1&2 Internal Control | solution de phage recombinant<br>Capuchon NEUTRE     | 8 x 160 µl  | -                          |
| 3     | HSV 1&2 Positive Control | solution d'ADN plasmidique<br>Capuchon ROUGE         | 2 x 1800 µl | -                          |
|       | Sample Dilution Buffer   | solution tampon<br>Capuchon MARRON                   | 8 x 1000 µl | -                          |

**MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON INCLUS DANS LE KIT**

- Hotte à flux laminaire ou enceinte de sécurité biologique.
- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.
- Agitateur de type vortex.
- Microcentrifugeuse de paillasse (12.000 – 14.000 tr/min).
- Micropipettes et cônes stériles avec filtre pour les aérosols ou à déplacement positif (2-20 µl, 5-50 µl, 50-200 µl, 200-1000 µl).

**AUTRES PRODUITS REQUIS**

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

Pour l'extraction automatique de l'ADN, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats des échantillons, l'instrument «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup S.p.A., réf. INT030 et INT030-K) et les protocoles de test spécifiques suivants (ELITechGroup S.p.A) sont requis:

- paramètres pour l'extraction et le contrôle positif d'amplification «**HSV ELITE\_PC**»,
- paramètres pour l'extraction et le contrôle négatif d'amplification «**HSV ELITE\_NC**»,
- paramètres pour les échantillons à traiter et analysés «**HSV ELITE\_MCS\_200\_50**».

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

- cartouches d'extraction «**ELITE InGenius® SP 200**» (ELITechGroup S.p.A., réf. INT032SP200),
- consommables pour l'extraction et l'amplification «**ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELITechGroup S.p.A, réf. INT032CS),
- cartouches d'amplification «**ELITE InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A, réf. INT035PCR),
- cônes «**300 µL Filter tips Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, États-Unis, réf. TF-350-L-R-S),
- conteneurs «**ELITE InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A, réf. F2102-000).

**AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS**

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

**Avertissements et précautions d'ordre général**

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

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

- Porter des vêtements et des gants de protection appropriés et se protéger les yeux et le visage.
- Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.
- Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni 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.
- Se reporter à la dernière version du mode d'emploi disponible en ligne.
- Lire attentivement toutes les instructions fournies avec le produit avant d'exécuter le test.
- Lors de l'exécution du test, suivre les instructions fournies avec le produit.
- Ne pas utiliser le produit au-delà de la date de péremption indiquée.
- Utiliser uniquement les réactifs fournis avec le produit et ceux recommandés par le fabricant.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.
- Ne pas utiliser de réactifs commercialisés par d'autres fabricants.

**Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire**

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

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

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

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

**Avertissements et précautions spécifiques pour les composants**

- **HSV 1&2 PCR Mix**

Le mélange **HSV 1&2 PCR Mix** doit être conservé à -20 °C dans l'obscurité.

Le mélange **HSV 1&2 PCR Mix** peut être congelé et décongelé **cinq fois** au maximum: des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

- **HSV 1&2 Negative Control**

Le contrôle négatif **HSV 1&2 Negative Control** doit être conservé à -20 °C.

- **HSV 1&2 Positive Control**

Le contrôle positif **HSV 1&2 Positive Control** doit être conservé à -20 °C.

Le **HSV 1&2 Positive Control** peut être congelé et décongelé **cinq fois** au maximum: des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

- **HSV 1&2 Internal Control**

Le contrôle interne **HSV 1&2 Internal Control** doit être conservé à -20 °C.

Le contrôle interne **HSV 1&2 Internal Control** peut être congelé et décongelé **cinq fois** au maximum: des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

- **Sample Dilution Buffer**

Le tampon de dilution d'échantillons **Sample Dilution Buffer** doit être conservé à -20 °C.

**ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES**

**Échantillons**

Ce produit doit être utilisé avec les échantillons cliniques suivants:

**Échantillons de lésions cutanées et mucocutanées prélevés à l'écouvillon**

Les échantillons de lésions cutanées et mucocutanées prélevés à l'écouvillon pour l'extraction de l'ADN doivent être collectés et conservés dans un milieu de transport de virus UTM, M4, M4RT, M5 ou M6, et être identifiés conformément aux directives du laboratoire. Les échantillons doivent être transportés et conservés au réfrigérateur (+2/+8°C) pendant 7 jours au maximum ou à -70°C pendant 3 mois au maximum.

Diviser les échantillons en aliquotes avant la congélation afin d'éviter des cycles répétés de congélation et de décongélation.

Conservé les acides nucléiques purifiés à +2/+8°C s'ils sont utilisés le jour même de leur extraction, ou à -20°C pour un stockage à long terme.

**Remarque:** pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons de lésions mucocutanées prélevés à l'écouvillon à l'aide du système **ELITE InGenius** et du **logiciel ELITE InGenius** version 1.3 (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test: **HSV ELITE\_MCS\_200\_50**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µl d'échantillon, l'ajout de 10 µl de contrôle interne **HSV 1&2 Internal Control** par extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 50 µl.

Les échantillons contenus dans un tube primaire compatible ELITE InGenius (tube à capuchon vissant de 12 x 80 mm ou 13 x 100 mm ayant une forme conique interne, Copan Italia S.p.A., ou tube similaire) dont le volume d'échantillon est au minimum de 2,2 ml peuvent être placés directement dans le portoir à échantillons primaires du système ELITE InGenius. Pour les échantillons contenus dans un tube qui n'est pas compatible avec le système ELITE InGenius ou dont le volume d'échantillon est inférieur à 2,2 ml, il est nécessaire de transférer une aliquote de 200 µl dans un tube de sonication placé dans le portoir à tubes

de sonication de l'instrument ELITE InGenius. Se reporter au manuel d'utilisation du système ELITE InGenius (SCH mINT030\_en) pour obtenir de plus amples informations.

**Contrôles d'extraction et d'amplification**

Avant d'analyser un échantillon, il est absolument indispensable de générer et d'approuver les contrôles d'extraction et d'amplification pour le lot de réactifs d'amplification qui sera utilisé pendant le test: à titre de contrôle positif, utiliser le produit **HSV 1&2 Positive Control** inclus dans ce kit, en association avec le protocole **HSV ELITE\_PC**; à titre de contrôle négatif, utiliser le produit **HSV 1&2 Negative Control** inclus dans ce kit, en association avec le protocole **HSV ELITE\_NC**.

**Remarque:** le système **ELITE InGenius** exige que les résultats des contrôles d'extraction et d'amplification soient approuvés et valides pour chaque lot de réactifs d'amplification stocké dans sa base de données. Les résultats des contrôles, approuvés et stockés dans la base de données, expirent **au bout de 15 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser les contrôles positif et négatif en association avec le lot de réactifs d'amplification utilisé.

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

- un nouveau lot de réactifs d'amplification est utilisé,
- les résultats des contrôles de qualité (voir le paragraphe suivant) sont en dehors des spécifications,
- l'instrument **ELITE InGenius** subit une procédure de maintenance majeure.

**Contrôles de qualité**

Il est recommandé de planifier la validation de la procédure d'extraction et d'amplification. À cette fin, il est possible d'utiliser les échantillons testés ou du matériel de référence certifié.

**PROCÉDURE**

La procédure d'utilisation du **HSV 1&2 ELITE MGB® Kit** avec le système **ELITE InGenius** comporte trois étapes:

- vérification de la préparation du système,
- paramétrage de la session,
- examen et approbation des résultats.

**Vérification de la préparation du système**

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

- mettre l'instrument **ELITE InGenius** sous tension et de sélectionner le mode de connexion «**FERMÉ**» (CLOSED),
- vérifier que les contrôles d'extraction et d'amplification (Contrôles, HSV 1&2 Positive Control, HSV 1&2 Negative Control) ont été analysés en association avec le lot de réactifs d'amplification à utiliser, et que les résultats sont approuvés et valides (Statut [Status]). En l'absence de résultats des contrôles d'extraction et d'amplification approuvés ou valides, il est nécessaire de les générer tel que décrit aux paragraphes suivants,
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session et en utilisant les protocoles de test fournis par ELITechGroup S.p.A. Ces protocoles de DIV ont été spécifiquement validés avec les kits ELITE MGB®, l'instrument **ELITE InGenius** et la matrice indiquée.

Le protocole de test disponible pour tester des échantillons à l'aide du produit **HSV 1&2 ELITE MGB® Kit** est décrit dans le tableau ci-dessous :

| Protocole de test pour le HSV 1&2 ELITE MGB® Kit |  |                 |  |
|--|--|-----------------|--|
| Nom  | Matrice  | Rapport         | Caractéristiques   |
| HSV ELITE_MCS_200_50                             | Échantillons de lésions cutanées et mucocutanées prélevés à l'écouvillon | Positif/Négatif | Volume d'extraction initial: 200 µl<br>Volume d'éluion extrait: 50 µl<br>Contrôle interne: 10 µl<br>Sonication: NON<br>Facteur de dilution: 1<br>Volume de PCR Mix: 20 µl<br>Volume initial de PCR de l'échantillon: 10 µl |

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

### Paramétrage de la session

Le produit **HSV 1&2 ELITE MGB® Kit** peut être utilisé avec le système **ELITE InGenius** pour les analyses suivantes:

- A. Analyse intégrée (Extraction + PCR),
- B. Analyse d'amplification (PCR uniquement),
- C. Analyse intégrée du contrôle positif et du contrôle négatif (Extraction + PCR).

Tous les paramètres nécessaires pour la session sont inclus dans le protocole de test disponible sur l'instrument et sont automatiquement rappelés lorsque le protocole de test est sélectionné.

**Remarque:** le système ELITE InGenius peut être connecté au «Serveur de gestion des informations de laboratoire» (LIS) par lequel il est possible de charger les informations relatives à la session de travail. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Les principales étapes du paramétrage des trois types d'analyse sont décrites ci-dessous.

#### A. Analyse intégrée

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

1. Décongeler le tube HSV 1&2 PCR Mix pour la session. Chaque tube permet d'effectuer 12 réactions dans des conditions optimales de consommation de réactif (au moins 2 échantillons par session). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.

**Remarque:** décongeler le tube HSV 1&2 PCR Mix dans l'obscurité, car ce réactif est sensible à la lumière.

2. Décongeler les tubes HSV 1&2 Internal Control pour la session. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
3. Sélectionner «Exécuter un cycle» (Perform Run) dans l'écran «Accueil» (Home).
4. Vérifier que le «Volume d'extraction initial» (Extraction Input Volume) est de 200 µl et que le «Volume d'éluat extrait» (Extracted Elute Volume) est de 50 µl.
5. Pour chaque «Position» (Track) d'intérêt, renseigner l'«ID échantillon» (SampleID - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
6. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne «Test» (Assay) (c'est-à-dire HSV ELITE\_MCS\_200\_50).
7. Vérifier que le «Protocole» (Protocol) affiché est: «Extraction + PCR» (Extract + PCR).
8. Sélectionner la position de chargement de l'échantillon dans la colonne «Position de l'échantillon» (Sample Position):
  - si un tube primaire est utilisé, sélectionner «Tube primaire» (Primary Tube);
  - si un tube secondaire est utilisé, sélectionner «Tube de sonication» (Sonication Tube).
 Cliquer sur «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger le mélange HSV 1&2 PCR Mix et le contrôle interne HSV 1&2 Internal Control sur le «Bloc inventaire» (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI.
10. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la «Zone inventaire» (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
11. Charger les «Cassettes de PCR» (PCR Cassettes), les cartouches d'extraction «ELITE InGenius SP 200», tous les consommables requis et les échantillons à extraire en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
12. Fermer le tiroir de l'instrument.
13. Appuyer sur «Démarrer» (Start) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITE InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

**Remarque:** au terme de l'analyse, l'échantillon non extrait restant dans le «Tube primaire» (Primary Tube) doit être retiré de l'instrument, bouché et conservé. Éviter tout déversement de l'échantillon non extrait.

**Remarque:** au terme de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le «Tube d'éluat» (Elution Tube) doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 °C. Éviter tout déversement de l'échantillon

extrait.

**Remarque:** au terme de l'analyse, les cassettes de PCR contenant les produits de réaction et les consommables doivent être retirées de l'instrument et mises au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

**Remarque:** le mélange PCR Mix peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail.

#### B. Analyse d'amplification

Pour paramétrer une analyse d'amplification à partir d'acides nucléiques extraits, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI:

1. Décongeler le tube HSV 1&2 PCR Mix pour la session. Chaque tube permet d'effectuer 12 réactions dans des conditions optimales de consommation de réactif (au moins 2 tests par session). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.

**Remarque:** décongeler le tube HSV 1&2 PCR Mix dans l'obscurité, car ce réactif est sensible à la lumière.

2. Sélectionner «Exécuter un cycle» (Perform Run) dans l'écran «Accueil» (Home).
3. Même si aucune extraction ne sera réalisée, vérifier que le «Volume d'extraction initial» (Extraction Input Volume) est de 200 µl et que le «Volume d'éluat extrait» (Extracted Elute Volume) est de 50 µl.
4. Pour chaque «Position» (Track) d'intérêt, renseigner le SID en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
5. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne «Test» (Assay) (c'est-à-dire HSV ELITE\_MCS\_200\_50).
6. Sélectionner «PCR uniquement» (PCR Only) dans la colonne «Protocole» (Protocole).
7. Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne «Position échantillon» (Sample Position) est «Tube d'éluat (ligne inférieure)» [Elution Tube (bottom row)]. Cliquer sur «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
8. Charger le mélange HSV 1&2 PCR Mix sur le «Bloc inventaire» (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la «Zone inventaire» (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger les «Cassettes de PCR» (PCR Cassettes) et les échantillons d'acide nucléique extraits en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
11. Fermer le tiroir de l'instrument.
12. Appuyer sur «Démarrer» (Start) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITE InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

**Remarque:** au terme de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le «Tube d'éluat» (Elution Tube) doit être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C. Éviter tout déversement de l'échantillon extrait.

**Remarque:** au terme de l'analyse, les cassettes de PCR contenant les produits de réaction et les consommables doivent être retirées de l'instrument et mises au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

**Remarque:** le mélange PCR Mix peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail.

**C. Analyse intégrée du contrôle positif et du contrôle négatif**

Pour paramétrer une analyse intégrée avec extraction et amplification du contrôle positif et du contrôle négatif, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI:

1. Décongeler le tube HSV 1&2 PCR Mix pour la session. Chaque tube permet de préparer 12 réactions dans des conditions optimales de consommation de réactif (au moins 2 tests par session). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.

**Remarque:** décongeler le tube HSV 1&2 PCR Mix dans l'obscurité, car ce réactif est sensible à la lumière.

2. Décongeler les tubes HSV 1&2 Internal Control pour la session. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
3. Décongeler le tube HSV 1&2 Positive Control pour la session. Chaque tube permet d'effectuer 8 sessions. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu du tube pendant 5 secondes puis transférer 200 µl de HSV 1&2 Positive Control dans un «Tube de sonication» (Sonication tube).
4. Décongeler le tube HSV 1&2 Negative Control pour la session. Chaque tube permet d'effectuer 8 sessions. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu du tube pendant 5 secondes puis transférer 200 µl de HSV 1&2 Negative Control dans un «Tube de sonication» (Sonication tube).
5. Sélectionner «Exécuter un cycle» (Perform Run) dans l'écran «Accueil» (Home).
6. Vérifier que le «Volume d'extraction initial» (Extraction Input Volume) est de 200 µl et que le «Volume d'élué extrait» (Extracted Elute Volume) est de 50 µl.
7. Dans les «Positions» (Tracks) d'intérêt, sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne «Test» (Assay).
8. Pour le contrôle positif, sélectionner HSV ELITE\_PC dans la colonne «Test» (Assay) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du HSV1&2 Positive Control.
9. Pour le contrôle négatif, sélectionner HSV ELITE\_NC dans la colonne «Test» (Assay) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du HSV1&2 Negative Control.
10. Vérifier que le «Protocole» (Protocol) affiché est: «Extraction + PCR» (Extract + PCR).
11. Vérifier que la «Position échantillon» (Sample Position) affichée est: «Tube de sonication» (Sonication Tube). Cliquer sur «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
12. Charger le mélange HSV 1&2 PCR Mix et le contrôle interne HSV 1&2 Internal Control sur le «Bloc inventaire» (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI.
13. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la «Zone inventaire» (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
14. Charger les «Cassettes de PCR» (PCR Cassettes), les cartouches d'extraction «ELITE InGenius SP 200», tous les consommables requis et le HSV 1&2 Positive Control et 200 µl de HSV 1&2 Negative Control à extraire aux positions spécifiées à l'étape 7, en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
15. Fermer le tiroir de l'instrument.
16. Appuyer sur «Démarrer» (Start) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITE InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

**Remarque:** au terme de l'analyse, le contrôle positif et le contrôle négatif extraits restants dans le «Tube d'élué» (Elution Tube) doivent être mis au rebut. Éviter tout déversement de l'échantillon extrait.

**Remarque:** au terme de l'analyse, les cassettes de PCR contenant les produits de réaction et les consommables doivent être retirées de l'instrument et mises au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

**Remarque:** le mélange PCR Mix peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail.

**Examen et approbation des résultats**

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

**Remarque:** le système **ELITE InGenius** peut être connecté au «Système de gestion des informations de laboratoire» (LIS) qui permet d'envoyer les résultats de la session de travail au centre de données du laboratoire. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Le système **ELITE InGenius** génère les résultats à l'aide du produit **HSV 1&2 ELITE MGB® Kit** en exécutant la procédure suivante:

- A. Validation des résultats du contrôle positif et du contrôle négatif,
- B. Validation des résultats de l'échantillon,
- C. Rapport des résultats de l'échantillon.

**A. Validation des résultats du contrôle positif et du contrôle négatif**

Les signaux de fluorescence émis par les sondes des cibles (Canaux **HSV1** et **HSV2**) dans les réactions d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans les protocoles de test «HSV ELITE\_PC» et «HSV ELITE\_NC».

Les résultats de l'analyse du contrôle positif et du contrôle négatif, spécifiques au lot de réactifs d'amplification utilisé, sont enregistrés dans la base de données (Contrôles). Ils peuvent être visualisés et approuvés par du personnel qualifié disposant des privilèges « Administrateur » (Administrator) ou «Analyste» (Analyst), en suivant les instructions de la GUI.

Les résultats de l'analyse du contrôle positif et du contrôle négatif, spécifiques au lot de réactifs d'amplification, expirent **au bout de 15 jours**.

Les résultats des analyses du contrôle positif et du contrôle négatif sont utilisés par le logiciel de l'instrument pour paramétrer les «Graphiques de contrôle» (Control Charts) surveillant l'exécution des étapes de l'amplification. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

**Remarque:** si les résultats de l'analyse du contrôle positif et du contrôle négatif ne satisfont pas les critères d'acceptation, le message «Échec» (Failed) s'affiche dans l'écran «Contrôles» (Controls) et ils ne peuvent pas être approuvés. Dans ce cas, l'analyse du contrôle positif et du contrôle négatif doit être répétée.

**Remarque:** si le contrôle positif ou le contrôle négatif est analysé avec des échantillons à tester et que son résultat est non valide, l'intégralité de la session est non valide. Dans ce cas, l'analyse de tous les échantillons doit être également répétée.

**B. Validation des résultats de l'échantillon**

Les signaux de fluorescence émis par les sondes HSV1 et HSV2 spécifiques (Canaux **HSV1** et **HSV2**) et par la sonde du contrôle interne spécifique (Canal **IC**) dans chaque réaction d'amplification d'échantillon sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans le protocole de test HSV 1&2 ELITE\_MCS\_200\_50.

Les résultats sont présentés dans les rapports générés par l'instrument («Affichage des résultats» [Results Display]).

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

|                            |               |
|----------------------------|---------------|
| <b>1) Contrôle positif</b> | <b>Statut</b> |
| HSV 1&2 Positive Control   | APPROUVÉ      |
| <b>2) Contrôle négatif</b> | <b>Statut</b> |
| HSV 1&2 Negative Control   | APPROUVÉ      |

Pour chaque échantillon, le résultat du test est automatiquement interprété par le système, tel qu'établi par l'algorithme du logiciel ELITE® InGenius et les paramètres du protocole de test.

Les messages des résultats possibles sont répertoriés dans le tableau ci-dessous. Pour chaque échantillon, le système génère une combinaison des messages suivants afin de spécifier si les ADN de l'agent pathogène sont détectés ou non détectés.

| Résultat de l'analyse de l'échantillon   |  | Interprétation   |
|--|--|--|
| Résultat pour le HSV1  | Résultat pour le HSV2  |  |
| HSV1: ADN non détecté ou inférieur à la LoD (HSV1: DNA Not Detected or below LoD). | HSV2: ADN non détecté ou inférieur à la LoD (HSV2: DNA Not Detected or below LoD). | L'ADN du HSV1 et HSV2 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est valide et négatif pour ces agents pathogènes, ou leur concentration est inférieure à la limite de détection du test. |
| HSV1: ADN non détecté ou inférieur à la LoD (HSV1: DNA Not Detected or below LoD). | HSV2: ADN détecté (HSV2: DNA Detected).  | L'ADN du HSV1 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'ADN du HSV2 a été détecté dans l'échantillon.  |
| HSV1: ADN détecté (HSV1: DNA Detected).  | HSV2: ADN non détecté ou inférieur à la LoD (HSV2: DNA Not Detected or below LoD). | L'ADN du HSV1 a été détecté dans l'échantillon. L'ADN du HSV2 n'a pas été détecté dans l'échantillon.  |
| HSV1: ADN détecté (HSV1: DNA Detected).  | HSV2: ADN détecté (HSV2: DNA Detected).  | L'ADN du HSV1 et HSV2 a été détecté dans l'échantillon.  |
| Non valide - Tester à nouveau l'échantillon (Invalid - Retest Sample).             |  | Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du contrôle interne dû à une extraction incorrecte ou une contamination par des inhibiteurs. Le test doit être répété.                            |

Les échantillons rapportés comme «Non valide - Tester à nouveau l'échantillon» (Invalid - Retest Sample) par le logiciel ELITE InGenius ne sont pas appropriés pour l'interprétation des résultats. Dans ce cas, l'ADN du contrôle interne n'a pas été efficacement détecté en raison de problèmes lors de l'étape d'amplification ou d'extraction (dégradation d'ADN, perte d'ADN pendant l'extraction ou contamination par des inhibiteurs dans l'éluat), ce qui peut générer des résultats incorrects.

Lorsque le volume d'éluat est suffisant, l'échantillon extrait peut être à nouveau testé par une analyse d'amplification en mode «PCR uniquement» (PCR Only). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'une nouvelle aliquote à l'aide du mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les échantillons rapportés comme «HSV1: ADN non détecté ou inférieur à la LoD (HSV1: DNA Not Detected or below LoD) et «HSV2: ADN non détecté ou inférieur à la LoD (HSV2: DNA Not Detected or below LoD) sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter l'ADN des cibles. Dans ce cas, il n'est pas possible d'exclure que l'ADN des cibles soit présent à une concentration inférieure à la limite de détection du test (se reporter au chapitre «Caractéristiques de performance»).

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

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

### C. Rapport des résultats de l'échantillon

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

Le «Rapport échantillons» (Sample Report) présente les détails d'une session de travail triés par échantillon sélectionné (SID).

Le «Rapport des positions» (Track Report) présente les détails d'une session de travail triés par position sélectionnée.

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

## CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

### Reproductibilité

La reproductibilité du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit a été évaluée dans le cadre d'une étude menée dans plusieurs sites en utilisant des échantillons cliniques artificiels. Des panels de test du HSV ont été préparés en dopant le virus HSV1 (souche MacIntyre) ou HSV2 (souche MS) dans un milieu UTM (milieu de transport universel) aux concentrations suivantes: <1 x la LoD, 1 x la LoD et 3 x la LoD. Des membres du panel négatifs pour le HSV1 et le HSV2 ont été inclus à titre de contrôles de membres de contrôle du panel. La composition du panel de reproductibilité est présentée dans le tableau ci-dessous:

Panel de reproductibilité

| Nom | Description du contenu  | Charge virale | Taux de positivité attendu |
|-----|---|---------------|----------------------------|
| M1  | HSV1 C <sub>50</sub> (fortement négatif) dans un milieu UTM   | < 1 x la LoD  | 20-80 % de positifs        |
| M2  | HSV1 C <sub>95</sub> (faiblement positif) dans un milieu UTM  | 1 x la LoD    | ≥ 95 % de positifs         |
| M3  | HSV1 C <sub>100</sub> (modérément positif) dans un milieu UTM | 2-3 x la LoD  | 100 % de positifs          |
| M4  | HSV2 C <sub>50</sub> (fortement négatif) dans un milieu UTM   | < 1 x la LoD  | 20-80 % de positifs        |
| M5  | HSV2 C <sub>95</sub> (faiblement positif) dans un milieu UTM  | 1 x la LoD    | ≥ 95 % de positifs         |
| M6  | HSV2 C <sub>100</sub> (modérément positif) dans un milieu UTM | 2-3 x la LoD  | 100 % de positifs          |
| M7  | Négatif pour le HSV dans un milieu UTM                        | Négative      | 100 % de négatifs          |

Les panels ont été testés dans 3 sites, à raison de 2 opérateurs par site, en effectuant 1 analyse par opérateur et par jour pendant 10 jours non consécutifs, et en utilisant 1 seul lot de HSV 1&2 ELITE MGB® Kit. Les tests ont été effectués sur un minimum de 90 réplicats (30 par site) de chaque membre du panel. La variabilité inter-lots a uniquement été évaluée à ELITechGroup Inc. MDx (site interne) en utilisant 3 lots de HSV 1&2 ELITE MGB® Kit. Les contrôles ont été analysés tous les jours et inclus dans la première analyse de la journée.

Le % de concordance, les valeurs Ct moyennes et le % CV de chaque membre du panel et pour chaque site sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Résultats de la reproductibilité du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit

| Cible                     | Échantillon             | Site - 1                                     |                   |            | Site - 2                                     |                   |            | Site - 3                                     |                   |            | % de concordance avec les résultats attendus | IC à 95 %             |
|---------------------------|-------------------------|--|-------------------|------------|--|-------------------|------------|--|-------------------|------------|--|-----------------------|
|                           |                         | % de concordance avec les résultats attendus | Valeur Ct moyenne | % CV total | % de concordance avec les résultats attendus | Valeur Ct moyenne | % CV total | % de concordance avec les résultats attendus | Valeur Ct moyenne | % CV total |  |                       |
| Résultat HSV1             | HSV1 Faiblement positif | 100,0 % (30/30)                              | 38,9              | 1,70 %     | 100,0 % (30/30)                              | 38,3              | 2,10 %     | 100,0 % (30/30)                              | 38,0              | 2,00 %     | 100,0 % (90/90)                              | 95,9 à 100,0 %        |
|                           | HSV1 Modérément positif | 100,0 % (30/30)                              | 36,4              | 1,30 %     | 100,0 % (30/30)                              | 35,5              | 5,20 %     | 100,0 % (30/30)                              | 35,6              | 1,50 %     | 100,0 % (90/90)                              | 95,9 à 100,0 %        |
|                           | HSV2 Faiblement positif | 100,0 % (30/30) <sup>a</sup>                 | NA                | NA         | 100,0 % (29/29) <sup>a</sup>                 | NA                | NA         | 100,0 % (30/30) <sup>a</sup>                 | NA                | NA         | 100,0 % (89/89)                              | 95,6 à 100,0 %        |
|                           | HSV2 Modérément positif | 100,0 % (30/30) <sup>a</sup>                 | NA                | NA         | 100,0 % (30/30) <sup>a</sup>                 | NA                | NA         | 100,0 % (30/30) <sup>a</sup>                 | NA                | NA         | 100,0 % (90/90)                              | 95,9 à 100,0 %        |
|                           | Négatif pour le HSV     | 100,0 % (60/60) <sup>a</sup>                 | NA                | NA         | 100,0 % (38/38) <sup>a</sup>                 | 41,4              | 2,50 %     | 100,0 % (40/40) <sup>a</sup>                 | NA                | NA         | 100,0 % (138/138)                            | 97,3 à 100,0 %        |
|                           | Contrôle positif        | 100,0 % (30/30)                              | 27,5              | 1,30 %     | 100,0 % (5/5)                                | 27,5              | 1,20 %     | 100,0 % (5/5)                                | 27,0              | 0,80 %     | 100,0 % (40/40)                              | 91,2 à 100,0 %        |
| <b>Concordance totale</b> |                         | <b>100,0 % (210/210)</b>                     |                   |            | <b>100,0 % (162/162)</b>                     |                   |            | <b>100,0 % (165/165)</b>                     |                   |            | <b>100,0 % (537/537)</b>                     | <b>98,2 à 100,0 %</b> |

<sup>a</sup> Les résultats attendus des échantillons faiblement positifs pour le HSV2, modérément positifs pour le HSV2 et négatifs pour le HSV sont «négatifs» pour le HSV1.

Suite à la page suivante.

Liste des isolats du HSV et résultats de la LoD

| Organisme | Isolat/Souche              | Lignée cellulaire | Nombre de résultats qualitatifs détectés/Total | Valeur C <sub>T</sub> moyenne ± EC des réplicats détectés | 1 × la LoD TCID <sub>50</sub> /ml |
|-----------|----------------------------|-------------------|--|---|-----------------------------------|
| HSV1      | Souche MacIntyre           | Vero              | 20/20  | 37,91 ± 0,69  | 59,0 TCID <sub>50</sub> /ml       |
| HSV1      | Isolat n° 15 (ZeptoMetrix) | Vero              | 20/20  | 39,94 ± 0,95  | 1,5 TCID <sub>50</sub> /ml        |
| HSV2      | Souche MS                  | Vero              | 20/20  | 37,90 ± 0,92  | 5,4 TCID <sub>50</sub> /ml        |
| HSV2      | Isolat n° 2 (ZeptoMetrix)  | Vero              | 20/20  | 38,67 ± 1,03  | 0,3 TCID <sub>50</sub> /ml        |

Il a également été confirmé que la limite de blanc (LoB) était de zéro pour les cibles HSV1 et HSV2 en utilisant 60 réplicats d'un pool de matrices de joue humaine négatives pour le HSV.

Il a été déterminé que l'efficacité d'éluion de l'écouvillon floqué classique de Copan, en unités TCID<sub>50</sub>/écouvillon, était d'environ 100 % et qu'elle était directement proportionnelle à la TCID<sub>50</sub>/ml, en ne dépendant que du volume du milieu contenu dans le dispositif de prélèvement.

**Valeur seuil du test**

L'analyse de la valeur seuil du test a été effectuée sur un ensemble distinct de 141 échantillons cliniques prélevés dans 3 sites cliniques. Chaque échantillon clinique a été évalué à l'aide du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit en association avec l'instrument ELITE InGenius et une méthode de référence composite (analyse de PCR en temps réel approuvée par la FDA, combinée à une amplification par PCR et un séquençage bidirectionnel). Les deux cibles présentes dans les échantillons cliniques ont été détectées jusqu'au cycle 45. Par conséquent, une valeur C<sub>T</sub> de 45 a été établie comme la valeur seuil du test pour les cibles HSV1 et HSV2.

**Réactivité analytique (inclusivité)**

La réactivité analytique (inclusivité) a été évaluée en préparant 44 isolats du HSV1 ou HSV2 quantifiés et disponibles dans le commerce (22 HSV1 et 22 HSV2), indiqués dans le Tableau 14 ci-dessous. Chaque isolat a été dilué dans un milieu UTM à une concentration de 3 × la LoD (177 TCID<sub>50</sub>/ml pour le HSV1 et 16,2 TCID<sub>50</sub>/ml pour le HSV2) puis a été évalué à l'aide du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit en association avec l'instrument ELITE InGenius. Tous les isolats du HSV1 et HSV2 testés dans le tableau ci-dessous ont été détectés par le HSV 1&2 ELITE MGB® Kit à des concentrations de 16,2 – 354 TCID<sub>50</sub>/ml.

**Résumé des résultats de la réactivité analytique (inclusivité) du HSV**

| N° | Isolat                   | 1 × la LoD estimée (TCID <sub>50</sub> /ml) | × LoD testée | Conc. de test finale (TCID <sub>50</sub> /ml) | Positivité |
|----|--------------------------|---|--------------|---|------------|
| 1  | Souche MacIntyre du HSV1 | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 2  | Isolat n° 1 du HSV1      | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 3  | Isolat n° 2 du HSV1      | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 4  | Isolat n° 3 du HSV1      | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 5  | Isolat n° 4 du HSV1      | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 6  | Isolat n° 5 du HSV1      | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 7  | Isolat n° 6 du HSV1      | 59  | 3 ×          | 177   | 0/3        |
|    |                          | 59  | 6 ×          | 354   | 3/3        |
| 8  | Isolat n° 7 du HSV1      | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 9  | Isolat n° 8 du HSV1      | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 10 | Isolat n° 9 du HSV1      | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 11 | Isolat n° 10 du HSV1     | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 12 | Isolat n° 11 du HSV1     | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 13 | Isolat n° 12 du HSV1     | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 14 | Isolat n° 13 du HSV1     | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 15 | Isolat n° 14 du HSV1     | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 16 | Isolat n° 15 du HSV1     | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 17 | Isolat n° 16 du HSV1     | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 18 | Isolat n° 17 du HSV1     | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 19 | Isolat n° 18 du HSV1     | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 20 | Isolat n° 19 du HSV1     | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 21 | Isolat n° 20 du HSV1     | 59  | 3 ×          | 177   | 0/3        |

| Cible         | Échantillon               | Site – 1                                     |                          |            | Site – 2                                     |                          |            | Site – 3                                     |                          |            | % de concordance avec les résultats attendus | IC à 95 %                |
|---------------|---------------------------|--|--------------------------|------------|--|--------------------------|------------|--|--------------------------|------------|--|--------------------------|
|               |                           | % de concordance avec les résultats attendus | Valeur Ct moyenne        | % CV total | % de concordance avec les résultats attendus | Valeur Ct moyenne        | % CV total | % de concordance avec les résultats attendus | Valeur Ct moyenne        | % CV total |  |                          |
| Résultat HSV2 | HSV1 Faiblement positif   | 100,0 % (30/30) <sup>b</sup>                 | NA                       | NA         | 100,0 % (30/30) <sup>b</sup>                 | NA                       | NA         | 100,0 % (30/30) <sup>b</sup>                 | NA                       | NA         | 100,0 % (90/90)                              | 95,9 à 100,0 %           |
|               | HSV1 Modérément positif   | 100,0 % (30/30) <sup>b</sup>                 | NA                       | NA         | 100,0 % (30/30) <sup>b</sup>                 | NA                       | NA         | 100,0 % (30/30) <sup>b</sup>                 | NA                       | NA         | 100,0 % (90/90)                              | 95,9 à 100,0 %           |
|               | HSV2 Faiblement positif   | 100,0 % (30/30)                              | 36,8                     | 3,10 %     | 100,0 % (29/29)                              | 37,8                     | 2,30 %     | 100,0 % (30/30)                              | 36,6                     | 1,90 %     | 100,0 % (89/89)                              | 95,9 à 100,0 %           |
|               | HSV2 Modérément positif   | 100,0 % (30/30)                              | 35,2                     | 1,30 %     | 100,0 % (30/30)                              | 35,95                    | 1,60 %     | 100,0 % (30/30)                              | 34,6                     | 2,30 %     | 100,0 % (90/90)                              | 95,9 à 100,0 %           |
|               | Négatif pour le HSV       | 100,0 % (60/60) <sup>b</sup>                 | NA                       | NA         | 100,0 % (38/38) <sup>b</sup>                 | NA                       | NA         | 100,0 % (40/40) <sup>b</sup>                 | NA                       | NA         | 100,0 % (138/138)                            | 95,9 à 100,0 %           |
|               | Contrôle positif          | 100,0 % (30/30)                              | 27,0                     | 1,30 %     | 100,0 % (5/5)                                | 27,4                     | 1,50 %     | 100,0 % (5/5)                                | 26,8                     | 1,40 %     | 100,0 % (40/40)                              | 95,9 à 100,0 %           |
|               | <b>Concordance totale</b> |  | <b>100,0 % (210/210)</b> |            |  | <b>100,0 % (162/162)</b> |            |  | <b>100,0 % (165/165)</b> |            |  | <b>100,0 % (537/537)</b> |

<sup>a</sup> Les résultats attendus des échantillons faiblement positifs pour le HSV1, modérément positifs pour le HSV1 et négatifs pour le HSV sont «négatifs» pour le HSV2.

| Cible       | Échantillon               | Site – 1                                     |                          |            | Site – 2                                     |                          |            | Site – 3                                     |                          |            | % de concordance avec les résultats attendus | IC à 95 %                |
|-------------|---------------------------|--|--------------------------|------------|--|--------------------------|------------|--|--------------------------|------------|--|--------------------------|
|             |                           | % de concordance avec les résultats attendus | Valeur Ct moyenne        | % CV total | % de concordance avec les résultats attendus | Valeur Ct moyenne        | % CV total | % de concordance avec les résultats attendus | Valeur Ct moyenne        | % CV total |  |                          |
| Résultat IC | HSV1 Faiblement positif   | 100,0 % (30/30)                              | 30,4                     | 3,80 %     | 100,0 % (30/30)                              | 30,3                     | 2,00 %     | 100,0 % (30/30)                              | 30,2                     | 1,70 %     | 100,0 % (90/90)                              | 95,9 à 100,0 %           |
|             | HSV1 Modérément positif   | 100,0 % (30/30)                              | 30,2                     | 2,30 %     | 100,0 % (30/30)                              | 30,4                     | 2,80 %     | 100,0 % (30/30)                              | 30,1                     | 0,90 %     | 100,0 % (90/90)                              | 95,9 à 100,0 %           |
|             | HSV2 Faiblement positif   | 100,0 % (30/30)                              | 29,9                     | 0,50 %     | 100,0 % (29/29)                              | 30,4                     | 2,20 %     | 100,0 % (30/30)                              | 30,2                     | 0,60 %     | 100,0 % (89/89)                              | 95,9 à 100,0 %           |
|             | HSV2 Modérément positif   | 100,0 % (30/30)                              | 29,7                     | 0,80 %     | 100,0 % (30/30)                              | 30,4                     | 1,20 %     | 100,0 % (30/30)                              | 30,1                     | 0,60 %     | 100,0 % (90/90)                              | 95,9 à 100,0 %           |
|             | Négatif pour le HSV       | 100,0 % (60/60)                              | 30,2                     | 1,10 %     | 100,0 % (40/40)                              | 30,2                     | 1,90 %     | 100,0 % (38/38)                              | 30,1                     | 0,90 %     | 100,0 % (138/138)                            | 97,3 à 100,0 %           |
|             | Contrôle positif          | 100,0 % (30/30)                              | 29,3                     | 1,40 %     | 100,0 % (5/5)                                | 30,2                     | 2,10 %     | 100,0 % (5/5)                                | 29,4                     | 0,90 %     | 100,0 % (40/40)                              | 91,2 à 100,0 %           |
|             | <b>Concordance totale</b> |  | <b>100,0 % (210/210)</b> |            |  | <b>100,0 % (164/164)</b> |            |  | <b>100,0 % (163/163)</b> |            |  | <b>100,0 % (537/537)</b> |

La variabilité inter-sites la plus élevée du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit (mesurée par le % CV en se basant sur les valeurs C<sub>T</sub>) est de 2,19 %; la variabilité inter-lots la plus élevée est de 0,23 % et la variabilité inter-opérateurs la plus élevée est de 0,93 % pour les membres du panel modérément positifs.

**Limite de détection (LoD)/Sensibilité analytique**

La limite de détection du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit a été évaluée en utilisant des isolats quantifiés et positifs pour le HSV disponibles dans le commerce (deux HSV1 et deux HSV2), indiqués dans le Tableau 13 ci-dessous. Les isolats ont été dilués dans un milieu UTM à 100 TCID<sub>50</sub>/ml et ont en outre été dilués par des dilutions à 1:3 dans un milieu UTM. Les résultats de la LoD ont été déterminés en utilisant un logiciel d'analyse de données par modèle Logit (modèle de fonction logistique Analyse-it pour Microsoft Excel v4.80.2). La LoD a été déterminée comme la concentration la plus faible de la cible du HSV qui pouvait être invariablement détectée dans ≥ 95 % des échantillons mucocutanés prélevés à l'écouvillon et testés dans des conditions de laboratoire standard. La LoD a été confirmée en testant vingt (20) réplicats supplémentaires à la concentration de la LoD et en démontrant que le virus était détecté 95 % du temps.

| N° | Isolat               | 1 × la LoD estimée (TCID <sub>50</sub> /ml) | × LoD testée | Conc. de test finale (TCID <sub>50</sub> /ml) | Positivité |
|----|----------------------|---|--------------|---|------------|
|    |                      | 59  | 6 ×          | 354   | 3/3        |
| 22 | Isolat n° 21 du HSV1 | 59  | 3 ×          | 177   | 3/3        |
| 23 | Souche MS du HSV2    | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |
| 24 | Isolat n° 1 du HSV2  | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |
| 25 | Isolat n° 2 du HSV2  | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |
| 26 | Isolat n° 3 du HSV2  | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |
| 27 | Isolat n° 4 du HSV2  | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |
| 28 | Isolat n° 5 du HSV2  | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |
| 29 | Isolat n° 6 du HSV2  | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |
| 30 | Isolat n° 7 du HSV2  | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |
| 31 | Isolat n° 8 du HSV2  | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 2/3        |
|    |                      | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |
| 32 | Isolat n° 9 du HSV2  | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |
| 33 | Isolat n° 10 du HSV2 | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |
| 34 | Isolat n° 11 du HSV2 | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 2/3        |
|    |                      | 5,4   | 6 ×          | 32,4  | 3/3        |
| 35 | Isolat n° 12 du HSV2 | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 1/3        |
|    |                      | 5,4   | 6 ×          | 32,4  | 3/3        |
| 36 | Isolat n° 13 du HSV2 | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 0/3        |
|    |                      | 5,4   | 6 ×          | 32,4  | 2/3        |
|    |                      | 5,4   | 12 ×         | 64,8  | 2/3        |
|    |                      | 5,4   | 24 ×         | 129,6   | 3/3        |
| 37 | Isolat n° 14 du HSV2 | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 1/3        |
|    |                      | 5,4   | 6 ×          | 32,4  | 3/3        |
| 38 | Isolat n° 15 du HSV2 | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 0/3        |
|    |                      | 5,4   | 6 ×          | 32,4  | 3/3        |
| 39 | Isolat n° 16 du HSV2 | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 1/3        |
|    |                      | 5,4   | 6 ×          | 32,4  | 3/3        |
| 40 | Isolat n° 17 du HSV2 | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 1/3        |
|    |                      | 5,4   | 6 ×          | 32,4  | 1/3        |
|    |                      | 5,4   | 12 ×         | 64,8  | 3/3        |
| 41 | Isolat n° 18 du HSV2 | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |
| 42 | Isolat n° 19 du HSV2 | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 2/3        |
|    |                      | 5,4   | 6 ×          | 32,4  | 1/3        |
|    |                      | 5,4   | 12 ×         | 64,8  | 3/3        |
| 43 | Isolat n° 20 du HSV2 | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 0/3        |
|    |                      | 5,4   | 6 ×          | 32,4  | 1/3        |
|    |                      | 5,4   | 12 ×         | 64,8  | 3/3        |
| 44 | Isolat n° 21 du HSV2 | 5,4   | 3 ×          | 16,2  | 3/3        |

#### Spécificité analytique (réactivité croisée)

La réactivité croisée potentielle du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit a été évaluée en testant des organismes étroitement apparentés au HSV, ou des organismes qui provoquent des symptômes cliniques similaires ou peuvent être également présents dans les sites cutanés et muco-cutanés anogénitaux et oraux testés par ce dispositif. Au total, 49 organismes exerçant une potentielle réactivité croisée ont été évalués. Pour chaque organisme, l'échantillon à tester a été préparé à partir d'un stock quantifié qui a été dilué à la concentration requise en utilisant un milieu de transport universel (UTM). Les organismes exerçant une potentielle réactivité croisée testés, les concentrations évaluées et les résultats sont présentés dans le Tableau 15 ci-dessous:

#### Résultats des tests de la réactivité croisée

| N° | Organismes exerçant une potentielle réactivité croisée | Concentration testée                       | Résultat qualitatif (Nbre détectés/Nbre total) |      |
|----|--|--|--|------|
|    |  |  | HSV1   | HSV2 |
| 1  | <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>                     | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 2  | <i>Acinetobacter lwoffii</i>                           | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 3  | Adénovirus de type 2                                   | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | 0/3  | 0/3  |
| 4  | <i>Bacteroides fragilis</i>                            | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 5  | <i>Candida albicans</i>                                | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 6  | <i>Candida glabrata</i>                                | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 7  | <i>Candida guilliermondii</i>                          | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 8  | <i>Candida krusei</i>                                  | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 9  | <i>Candida lusitanae</i>                               | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 10 | <i>Candida parapsilosis</i>                            | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 11 | <i>Candida tropicalis</i>                              | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 12 | <i>Chlamydia trachomatis</i>                           | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 13 | Cytomégalovirus  | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | 0/3  | 0/3  |
| 14 | <i>Enterobacter cloacae</i>                            | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 15 | Entérovirus  | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | 0/3  | 0/3  |
| 16 | Virus d'Epstein-Barr                                   | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | 0/3  | 0/3  |
| 17 | <i>Escherichia coli</i>                                | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 18 | <i>Fusobacterium nucleatum</i>                         | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 19 | <i>Gardnerella vaginalis</i>                           | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 20 | <i>Haemophilus ducreyi</i>                             | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 21 | ADN génomique humain                                   | 500 ng/écouvillon                          | 0/3  | 0/3  |
| 22 | Herpèsvirus humain de type 6                           | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | 0/3  | 0/3  |
| 23 | Herpèsvirus humain de type 7                           | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | 0/3  | 0/3  |
| 24 | Papillomavirus humain de type 16                       | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | 0/3  | 0/3  |
| 25 | Papillomavirus humain de type 18                       | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | 0/3  | 0/3  |
| 26 | Virus Herpes Simplex de type 1 (HSV1), isolat 20, ZMC  | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | 3/3  | 0/3  |
| 27 | Virus Herpes Simplex de type 2 (HSV2), isolat 20, ZMC  | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | 0/3  | 3/3  |
| 28 | <i>Klebsiella pneumoniae</i>                           | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 29 | <i>Lactobacillus acidophilus</i>                       | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 30 | <i>Mobiluncus curtisii</i>                             | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 31 | <i>Mobiluncus mulieris</i>                             | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 32 | <i>Moraxella catarrhalis</i>                           | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 33 | <i>Mycoplasma hominis</i>                              | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 34 | <i>Neisseria gonorrhoea</i>                            | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 35 | <i>Neisseria meningitides</i>                          | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 36 | <i>Prevotella melaninogenica</i>                       | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 37 | Virus de la rubéole                                    | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | 0/3  | 0/3  |
| 38 | <i>Staphylococcus aureus</i> (SASM)                    | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 39 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> (SERM)               | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 44 | <i>Staphylococcus saprophyticus</i>                    | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 41 | <i>Streptococcus mitis</i>                             | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 42 | <i>Streptococcus mutans</i>                            | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 43 | <i>Streptococcus pneumoniae</i>                        | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 44 | <i>Streptococcus pyogenes</i>                          | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 45 | <i>Streptococcus salivarius</i>                        | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 46 | <i>Toxoplasma gondii</i>                               | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 47 | <i>Trichomonas vaginalis</i>                           | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |
| 48 | Virus de la varicelle et du zona (VZV)                 | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | 0/3  | 0/3  |
| 49 | <i>Chlamydia pneumoniae</i>                            | 1 × 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | 0/3  | 0/3  |

**Interférence microbienne**

L'interférence microbienne a été évaluée en présence du HSV1 ou HSV2 dopé à 3 x la LoD dans un milieu UTM avec les 49 organismes indiqués dans le Tableau 15 ci-dessus. Chaque microorganisme a été testé à 1 x 10<sup>6</sup> CFU/ml ou plus pour les isolats bactériens, ou à 1 x 10<sup>5</sup> TCID<sub>50</sub>/ml ou plus pour les virus. Aucun des organismes non cibles susceptibles d'être raisonnablement observés dans des échantillons cutanés et mucocutanés types prélevés à l'écouvillon n'interférait avec la détection des espèces HSV1 et HSV2.

**Interférence compétitive du HSV1 et HSV2**

L'interférence compétitive a été étudiée à l'aide du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit pour évaluer les effets d'une éventuelle co-infection cliniquement pertinente par le HSV1 et le HSV2.

L'étude a évalué si la présence d'un des virus à une concentration élevée dans l'échantillon pouvait potentiellement affecter les performances du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit à détecter l'autre cible présente à une faible concentration. Un échantillon faiblement positif a été créé artificiellement à environ 3 x la LoD pour chaque cible (souche MacIntyre du HSV1 et souche MS du HSV2) et une valeur Ct de référence a été déterminée pour chaque échantillon. Chaque virus infectieux concomitant potentiel a été dopé dans l'échantillon à faible concentration et a été analysé en triple. Une interférence compétitive du HSV2 a été observée à des concentrations de HSV2 de 1 x 10<sup>5</sup>, 1 x 10<sup>4</sup> et 1 x 10<sup>3</sup>. Aucune interférence compétitive du HSV1 n'a été observée à toutes les concentrations testées. Les résultats des tests sont présentés dans le tableau ci-dessous.

**Interférence compétitive des cibles HSV1 et HSV2 à des concentrations différentes**

| Référence (faible concentration) |  | Interférence compétitive (concentration élevée) |  | Résultats qualitatifs (Nbre détectés/Nbre total) |      |
|----------------------------------|--|---|--|--|------|
| Souche                           | Concentration (TCID <sub>50</sub> /ml) | Souche  | Concentration (TCID <sub>50</sub> /ml) | HSV1   | HSV2 |
| HSV1 MacIntyre                   | 177                                    | HSV2 MS   | 1 x 10 <sup>5</sup>                    | 0/3  | 3/3  |
| HSV1 MacIntyre                   | 177                                    | HSV2 MS   | 1 x 10 <sup>4</sup>                    | 1/3  | 3/3  |
| HSV1 MacIntyre                   | 177                                    | HSV2 MS   | 1 x 10 <sup>3</sup>                    | 1/3  | 3/3  |
| HSV1 MacIntyre                   | 177                                    | HSV2 MS   | 1 x 10 <sup>2</sup>                    | 3/3  | 3/3  |
| HSV1 MacIntyre                   | 177                                    | HSV2 MS   | 0                                      | 3/3  | 0/3  |
| HSV2 MS                          | 16,2                                   | HSV1 MacIntyre                                  | 1 x 10 <sup>5</sup>                    | 3/3  | 3/3  |
| HSV2 MS                          | 16,2                                   | HSV1 MacIntyre                                  | 1 x 10 <sup>4</sup>                    | 3/3  | 3/3  |
| HSV2 MS                          | 16,2                                   | HSV1 MacIntyre                                  | 1 x 10 <sup>3</sup>                    | 3/3  | 3/3  |
| HSV2 MS                          | 16,2                                   | HSV1 MacIntyre                                  | 1 x 10 <sup>2</sup>                    | 3/3  | 3/3  |
| HSV2 MS                          | 16,2                                   | HSV1 MacIntyre                                  | 0                                      | 0/3  | 3/3  |

En outre, dans une étude distincte, les deux souches ont été testées à des concentrations similaires ou équivalentes de 3 x la LoD, 1 x 10<sup>3</sup> et 1 x 10<sup>5</sup>, et aucune interférence compétitive n'a été observée.

**Interférence compétitive des cibles HSV1 et HSV2 à des concentrations équivalentes**

| Concentration du HSV1 |  | Concentration du HSV2 |  | Résultats qualitatifs (Nbre détectés/Nbre total) |      | Résultats quantitatifs (% CV) |        |
|-----------------------|--|-----------------------|--|--|------|-------------------------------|--------|
| Souche                | Concentration (TCID <sub>50</sub> /ml) | Souche                | Concentration (TCID <sub>50</sub> /ml) | HSV1   | HSV2 | HSV1                          | HSV2   |
| HSV1 MacIntyre        | 1 x 10 <sup>5</sup>                    | HSV2 MS               | 1 x 10 <sup>5</sup>                    | 5/5  | 5/5  | 3,02 %                        | 1,64 % |
| HSV1 MacIntyre        | 1 x 10 <sup>3</sup>                    | HSV2 MS               | 1 x 10 <sup>3</sup>                    | 5/5  | 5/5  | 1,09 %                        | 2,95 % |
| HSV1 MacIntyre        | 177 (3 x LoD)                          | HSV2 MS               | 16,2 (3 x LoD)                         | 5/5  | 5/5  | 1,74 %                        | 1,88 % |

**Substances interférentes**

La performance du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit a été évaluée avec des substances potentiellement interférentes qui pourraient être observées dans des échantillons de lésions prélevés à l'écouvillon dans des sites cutanés ou mucocutanés. L'interférence provoquée par d'autres substances a été évaluée en présence du HSV1 ou HSV2 dopé à 3 x la LoD dans un milieu UTM pour 33 substances potentiellement interférentes

aux concentrations indiquées dans le Tableau 18 ci-dessous. Chaque membre du panel a été testé en triple. Aucune interférence avec la détection du HSV1 ou HSV2 n'a été observée.

**Panel de test des substances interférentes**

| Substance interférente potentielle                          | Concentration interférente | Nbre détectés/Nbre total |      |     |
|---|----------------------------|--------------------------|------|-----|
|   |                            | HSV1                     | HSV2 | IC  |
| Sang total avec EDTA  | 5 % v/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Couche leucocyto-plaquettaire                               | 5 % v/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Acyclovir   | 2,5 mg/ml                  | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Albumine  | 5 mg/ml                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Caséine   | 7 mg/ml                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Urine (femme)   | 10 % v/v                   | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Urine (homme)   | 10 % v/v                   | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Gel lubrifiant de marque K-Y                                | 5 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Douche vaginale   | 10 % v/v                   | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Spermicide  | 5 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Gel Yeast-Gard  | 1 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Monistat 1  | 5 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Monistat 3  | 5 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Crème Vagisil   | 1 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Tioconazole 1   | 5 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Produit d'hygiène intime féminine Rite Aid, peaux sensibles | 10 % v/v                   | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Crème vaginale Clotrimazole-7                               | 1 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Gel analgésique oral  | 5 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Bain de bouche antiseptique Listerine                       | 10 % v/v                   | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Abreva  | 10 % v/v                   | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Baume à lèvres Carmex                                       | 1 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Traitement de l'herpès labial Releev                        | 1 % v/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Lip Clear lysine  | 1 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Dentifrice  | 5 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Acétaminophène  | 5 mg/ml                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Wal-Finate  | 5 mg/ml                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Cold-Eeze   | 7 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Amidon de maïs sans OGM                                     | 1,25 mg/ml                 | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Pommade à base d'oxyde de zinc                              | 7 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Sirop Cough DM  | 10 mg/ml                   | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Crème anti-démangeaisons Lanacane Max Strength              | 7 % p/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Liquide séminal   | 7 % v/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |
| Foscarnet sodique   | 5 % v/v                    | 3/3                      | 3/3  | 3/3 |

**Transfert inter-échantillons et contamination croisée**

Le transfert inter-échantillons et la contamination croisée ont été évalués à l'aide du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit, en association avec l'instrument ELITE InGenius, en testant en alternance des échantillons fortement positifs pour le HSV1 et négatifs pour le HSV1 et HSV2. Aucune contamination croisée n'a été observée pendant l'étude.

**Résultats de l'étude de transfert inter-échantillons et de contamination croisée**

| Description de l'analyse | Échantillons positifs |               | Échantillons négatifs |               |
|--------------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|---------------|
|                          | Nbre de négatifs      | % de négatifs | Nbre de positifs      | % de positifs |
| Analyse n° 1, BLANC      | 0/0                   | NA            | 0/10                  | 0 %           |
| Analyse n° 2, Damier     | 0/5                   | 0 %           | 0/6                   | 0 %           |
| Analyse n° 3, Damier     | 0/6                   | 0 %           | 0/6                   | 0 %           |
| Analyse n° 4, BLANC      | 0/0                   | NA            | 0/10                  | 0 %           |

| Description de l'analyse | Échantillons positifs |               | Échantillons négatifs |               |
|--------------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|---------------|
|                          | Nbre de négatifs      | % de négatifs | Nbre de positifs      | % de positifs |
| Analyse n° 5, Damier     | 0/6                   | 0 %           | 0/6                   | 0 %           |
| Analyse n° 6, Damier     | 0/6                   | 0 %           | 0/6                   | 0 %           |
| Analyse n° 7, Damier     | 0/6                   | 0 %           | 0/6                   | 0 %           |
| Toutes les analyses      | 0/29                  | 0 %           | 0/50                  | 0 %           |

#### Stabilité des échantillons

Cette étude a évalué la stabilité intrinsèque des échantillons ainsi que la stabilité des échantillons en cas de congélation/décongélation. Pour l'évaluation de la stabilité, les échantillons ont été préparés en dopant des stocks viraux de HSV1 et HSV2 (souche MacIntyre du HSV1 et souche MS du HSV2), quantifiés par le fournisseur, dans des milieux UTM, M4, M4RT, M5 et M6. Chaque ensemble d'échantillons de stabilité était composé de:

- 5 réplicats dopés à 3 x la LoD,
- 5 réplicats dopés à  $1 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub>/ml, et
- 5 réplicats dopés à  $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml (15 réplicats au total pour chaque ensemble d'échantillons).

La stabilité de chaque ensemble d'échantillons a été évaluée et confirmée par une incubation à environ +4 C pendant 1 semaine. Il a été confirmé que tous les échantillons de HSV1 et HSV2 étaient stables dans les milieux UTM, M4, M4RT, M5 et M6 pendant 1 semaine à environ +4 C.

Les conditions de conservation ont également été validées en restant des échantillons cliniques précédemment analysés qui étaient conservés dans un congélateur à -80 C ( $\leq -70^\circ$  C) depuis un minimum de 4 mois. Les concentrations des échantillons couvraient l'intervalle clinique du HSV. Dix échantillons positifs pour le HSV1 ou HSV2 ont été testés pour chaque milieu (à l'exception du milieu M6 pour lequel seulement 7 échantillons positifs pour le HSV étaient disponibles). La positivité de tous les échantillons a été confirmée au bout de 4 mois de stockage dans un congélateur à -80 C ( $\leq -70^\circ$  C).

5 ensembles d'échantillons préparés comme indiqué ci-dessus dans des milieux UTM, M4, M4RT, M5 et M6 ont été soumis à 3 cycles de congélation/décongélation. Tous les échantillons ont été testés à l'aide du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit sur l'instrument ELITE InGenius. Les données obtenues montrent que les virus HSV1 et HSV2 sont stables après 3 cycles de congélation/décongélation dans des milieux UTM, M4, M4RT, M5 et M6.

#### Résumé des données de stabilité

| Milieu\ Conditions | +4 C (1 semaine) | -70 C (4 mois) | 3 cycles de congélation/décongélation |
|--------------------|------------------|----------------|---------------------------------------|
| UTM                | +                | +              | +                                     |
| M4                 | +                | +              | +                                     |
| M4RT               | +                | +              | +                                     |
| M5                 | +                | +              | +                                     |
| M6                 | +                | +              | +                                     |

#### Étude de comparaison de matrices

Une étude de comparaison de matrices a été effectuée étant donné que toutes les études analytiques ont été réalisées dans un milieu UTM (milieu de transport universel) et que les études cliniques ont été menées en utilisant des milieux UTM, M4, M4RT, M5 et M6.

L'étude de comparaison de matrices a été réalisée en utilisant un panel d'échantillons artificiels obtenu en dopant des souches virales quantifiées du HSV1 ou HSV2 dans chacun des milieux recommandés: UTM, M4, M4RT, M5 et M6. Chaque ensemble d'échantillons était composé de 3 réplicats dopés à 3 x la LoD, 3 réplicats dopés à  $1 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub>/ml, et 3 réplicats dopés à  $1 \times 10^5$  TCID<sub>50</sub>/ml (9 réplicats au total pour chaque ensemble d'échantillons). Chaque échantillon a été traité sur l'instrument InGenius à l'aide du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit. Tous les réplicats dans tous les milieux ont été détectés et montraient des résultats comparables. Les résultats de la comparaison des milieux sont présentés dans le Tableau 21 ci-dessous:

#### Résultats de l'étude de comparaison de matrices

| Cible/ Canal          | Titre d'échantillon TCID <sub>50</sub> /ml | Matrice d'échantillon    |                         |                           |                         |                         | Tous les milieux C <sub>T</sub> moy. | Tous les milieux Écart-type | Tous les milieux x % CV |
|-----------------------|--|--------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|-------------------------|
|                       |  | UTM, C <sub>T</sub> moy. | M4, C <sub>T</sub> moy. | M4RT, C <sub>T</sub> moy. | M5, C <sub>T</sub> moy. | M6, C <sub>T</sub> moy. |                                      |                             |                         |
| HSV2<br>CH1,<br>FAM   | 1,00E+05                                   | 27,15                    | 26,76                   | 26,42                     | 26,82                   | 27,23                   | 26,88                                | 0,33                        | 1,21 %                  |
|                       | 1,00E+03                                   | 33,86                    | 33,59                   | 33,76                     | 33,51                   | 34,15                   | 33,77                                | 0,25                        | 0,74 %                  |
|                       | 3 x la LoD                                 | 36,32                    | 35,56                   | 35,96                     | 35,54                   | 36,14                   | 35,91                                | 0,35                        | 0,97 %                  |
| HSV1<br>CH4,<br>AP593 | 1,00E+05                                   | 22,02                    | 21,13                   | 20,82                     | 20,77                   | 20,63                   | 21,08                                | 0,56                        | 2,66 %                  |
|                       | 1,00E+03                                   | 28,01                    | 28,47                   | 27,97                     | 28,58                   | 26,72                   | 27,95                                | 0,74                        | 2,64 %                  |
|                       | 3 x la LoD                                 | 35,84                    | 36,07                   | 37,02                     | 35,43                   | 34,69                   | 35,81                                | 0,86                        | 2,39 %                  |

Tous les milieux testés ont montré une performance comparable et peuvent être recommandés pour la collecte des échantillons et les tests à l'aide du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit.

#### Évaluation clinique

##### Description de l'étude

Afin d'évaluer la performance clinique du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit, la performance du produit a été comparée à une méthode de référence composite. Cette méthode se composait d'un essai approuvé par la FDA et d'une PCR du HSV1&2 validée suivie d'un séquençage bidirectionnel des échantillons positifs par une électrophorèse sur gel. La PCR du HSV 1&2 validée ciblait des régions génomiques qui étaient distinctes de celles du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit. Un résultat positif obtenu par la méthode de référence composite est défini comme un échantillon positif par la PCR approuvée par la FDA ou le séquençage validé. Deux résultats négatifs sont nécessaires pour confirmer un échantillon négatif.

Au total, 1174 échantillons de lésions cutanées (546) et mucocutanées (628) prélevés à l'écouvillon chez des patients symptomatiques, qui avaient été collectés de manière prospective, étaient archivés et inutilisés, ont été obtenus et évalués dans l'étude.

Les échantillons ont été testés à l'aide HSV 1&2 ELITE MGB® Kit et de la méthode de référence composite. Parmi les 1174 échantillons testés, 2 échantillons se sont avérés être non valides par le kit ELITE MGB® et ont été exclus des tableaux d'analyse de la performance.

Parmi les 1172 échantillons restants, 1 résultat d'échantillon non valide supplémentaire pour le HSV1 et 2 résultats d'échantillon non valides supplémentaires pour le HSV2 par la méthode de référence composite ont été exclus des tableaux d'analyse de la performance.

Par conséquent, pour le HSV1, 1171 échantillons ont été analysés et, pour le HSV2, 1170 échantillons ont été analysés.

#### Résultats: Valeurs attendues/Plage de référence

##### Prévalence du HSV 1&2

Les valeurs attendues observées pour le HSV1 et HSV2 dans la population de l'étude à l'aide du HSV 1&2 ELITE MGB Kit ont été calculées pour les échantillons cutanés et mucocutanés et sont résumées, pour l'ensemble d'échantillons combinés, par tranche d'âge, par sexe et par source d'échantillon dans les tableaux ci-dessous. Au total, 6 échantillons doublement positifs pour le HSV1 et HSV2 ont été détectés par le kit ELITE MGB® et un des échantillons a été confirmé comme étant positif par la méthode de référence composite.

**Prévalence du HSV 1&2 dans des échantillons cutanés et mucocutanés par âge et sexe**

| Sexe                      | Tranche d'âge | Total       | HSV 1&2 ELITe MGB® Kit Résultats pour le HSV1 |               | HSV 1&2 ELITe MGB® Kit Résultats pour le HSV2 |               |
|---------------------------|---------------|-------------|---|---------------|---|---------------|
|                           |               |             | Positif                                       | Prévalence    | Positif                                       | Prévalence    |
| Femme                     | < 20          | 42          | 18  | 42,9 %        | 12  | 28,6 %        |
|                           | 20-29         | 244         | 68  | 27,9 %        | 70  | 28,7 %        |
|                           | 30-39         | 143         | 24  | 16,8 %        | 45  | 31,5 %        |
|                           | 40-49         | 97          | 14  | 14,4 %        | 25  | 25,8 %        |
|                           | 50-59         | 88          | 18  | 20,5 %        | 24  | 27,3 %        |
|                           | ≥ 60          | 123         | 21  | 17,1 %        | 30  | 24,4 %        |
|                           | <b>Tous</b>   | <b>737</b>  | <b>163</b>                                    | <b>22,1 %</b> | <b>206</b>                                    | <b>28,0 %</b> |
| Homme                     | < 20          | 20          | 4   | 20,0 %        | 2   | 10,0 %        |
|                           | 20-29         | 144         | 25  | 17,4 %        | 33  | 22,9 %        |
|                           | 30-39         | 117         | 15  | 12,8 %        | 25  | 21,4 %        |
|                           | 40-49         | 48          | 5   | 10,4 %        | 15  | 31,3 %        |
|                           | 50-59         | 44          | 6   | 13,6 %        | 9   | 20,5 %        |
|                           | ≥ 60          | 61          | 5   | 8,2 %         | 13  | 21,3 %        |
|                           | <b>Tous</b>   | <b>434</b>  | <b>60</b>                                     | <b>13,8 %</b> | <b>97</b>                                     | <b>22,4 %</b> |
| <b>Sexe non identifié</b> |               | <b>1</b>    | <b>0</b>                                      | <b>0 %</b>    | <b>0</b>                                      | <b>0 %</b>    |
| <b>TOUS</b>               |               | <b>1172</b> | <b>223</b>                                    | <b>19,0 %</b> | <b>303</b>                                    | <b>25,9 %</b> |

**Prévalence du HSV 1&2 dans des échantillons cutanés par source de lésion**

| Source de la lésion  | Total      | HSV 1&2 ELITe MGB® Kit Résultats pour le HSV1 |               | HSV 1&2 ELITe MGB® Kit Résultats pour le HSV2 |               |
|----------------------|------------|---|---------------|---|---------------|
|                      |            | Positif                                       | Prévalence    | Positif                                       | Prévalence    |
| Génitale/Anogénitale | 248        | 38  | 15,3 %        | 78  | 31,5 %        |
| Lésion cutanée       | 297        | 47  | 15,8 %        | 53  | 17,8 %        |
| <b>TOUS</b>          | <b>545</b> | <b>85</b>                                     | <b>15,6 %</b> | <b>131</b>                                    | <b>24,0 %</b> |

**Prévalence du HSV 1&2 dans des échantillons mucocutanés par source de lésion**

| Source de la lésion               | Total      | HSV 1&2 ELITe MGB® Kit Résultat pour le HSV1 |               | HSV 1&2 ELITe MGB® Kit Résultat pour le HSV2 |               |
|-----------------------------------|------------|--|---------------|--|---------------|
|                                   |            | Positif                                      | Prévalence    | Positif                                      | Prévalence    |
| Génitale/Vaginale/Col de l'utérus | 501        | 109  | 21,8 %        | 163  | 32,5 %        |
| Orale                             | 74         | 21   | 28,4 %        | 2  | 2,7 %         |
| Autre                             | 27         | 5  | 18,5 %        | 2  | 7,4 %         |
| Anorectale                        | 12         | 2  | 16,7 %        | 5  | 41,7 %        |
| Urétrale                          | 6          | 0  | 0 %           | 0  | 0 %           |
| Oculaire                          | 5          | 0  | 0 %           | 0  | 0 %           |
| Nasale                            | 2          | 1  | 50,0 %        | 0  | 0 %           |
| <b>Tous</b>                       | <b>627</b> | <b>138</b>                                   | <b>22,0 %</b> | <b>172</b>                                   | <b>27,4 %</b> |

**Résultats: Performance clinique**

**Pourcentages de concordance positive/négative (PCP/PCN) pour le HSV1 - Résumé des résultats:**

Par comparaison à la méthode de référence composite, les performances du HSV 1&2 ELITe MGB® Kit, en termes de pourcentage de concordance positive et de pourcentage de concordance négative (PCP/PCN), dans la détection de l'ADN du HSV1 dans des lésions cutanées et mucocutanées sont résumées dans le tableau suivant :

**Résumé des résultats du HSV1 pour des échantillons de lésions cutanées valides (N = 545)**

| HSV 1&2 ELITe MGB® Kit | Méthode de référence composite |                  |       |
|------------------------|--------------------------------|------------------|-------|
|                        | Positif                        | Négatif          | Total |
| Positif                | 78                             | 7                | 85    |
| Négatif                | 1                              | 459              | 460   |
| Total                  | 79                             | 466              | 545   |
| <b>Résultats</b>       |                                | <b>IC à 95 %</b> |       |
| PCP                    | 98,7 % (78/79)                 | 93,2-99,8 %      |       |
| PCN                    | 98,5 % (459/466)               | 96,9-99,3 %      |       |

**Résumé des résultats du HSV1 pour des échantillons de lésions mucocutanées valides (N = 626)**

| HSV 1&2 ELITe MGB® Kit | Méthode de référence composite |                  |       |
|------------------------|--------------------------------|------------------|-------|
|                        | Positif                        | Négatif          | Total |
| Positif                | 126                            | 12               | 138   |
| Négatif                | 1                              | 487              | 488   |
| Total                  | 127                            | 499              | 626   |
| <b>Résultats</b>       |                                | <b>IC à 95 %</b> |       |
| PCP                    | 99,2 % (126/127)               | 95,7-99,9 %      |       |
| PCN                    | 97,6 % (487/499)               | 95,8-98,6 %      |       |

**PCP/PCN pour le HSV2 - Résumé des résultats:**

Par comparaison à la méthode de référence composite, les performances du HSV 1&2 ELITe MGB® Kit, en termes de pourcentage de concordance positive et de pourcentage de concordance négative (PCP/PCN), dans la détection de l'ADN du HSV2 dans des lésions cutanées et mucocutanées sont résumées dans le tableau suivant:

**Résumé des résultats du HSV2 pour des échantillons de lésions cutanées valides (N = 545)**

| HSV 1&2 ELITe MGB® Kit | Méthode de référence composite |                  |       |
|------------------------|--------------------------------|------------------|-------|
|                        | Positif                        | Négatif          | Total |
| Positif                | 125                            | 6                | 131   |
| Négatif                | 5                              | 409              | 414   |
| Total                  | 130                            | 415              | 545   |
| <b>Résultats</b>       |                                | <b>IC à 95 %</b> |       |
| PCP                    | 96,2 % (125/130)               | 91,3-98,3 %      |       |
| PCN                    | 98,6 % (409/415)               | 96,9-99,3 %      |       |

**Résumé des résultats du HSV2 pour des échantillons de lésions mucocutanées valides (N = 625)**

| HSV 1&2 ELITe MGB® Kit | Méthode de référence composite |                  |       |
|------------------------|--------------------------------|------------------|-------|
|                        | Positif                        | Négatif          | Total |
| Positif                | 164                            | 8                | 172   |
| Négatif                | 4                              | 449              | 453   |
| Total                  | 168                            | 457              | 625   |
| <b>Résultats</b>       |                                | <b>IC à 95 %</b> |       |
| PCP                    | 97,6 % (164/168)               | 94,0-99,1 %      |       |
| PCN                    | 98,2 % (449/457)               | 96,6-99,1 %      |       |

**Étude d'un panel d'échantillons oraux artificiels du HSV2**

En raison de la difficulté à obtenir suffisamment d'échantillons oraux positifs pour le HSV2, les tests du HSV2 ont été complétés à l'aide d'un panel artificiel. Le panel était composé de 75 échantillons individuels négatifs, prélevés à l'écouvillon dans la joue et collectés dans un milieu de transport universel (UTM), qui ont été dopés par le HSV1 et le HSV2 à différentes concentrations (comme indiqué dans le tableau ci-dessous).

**Panel d'échantillons oraux artificiels du HSV**

| Niveau   | Nbre d'échantillons | Titre de l'échantillon artificiel                  | × LoD         |
|----------|---------------------|--|---------------|
| Niveau 1 | 10                  | Positif pour le HSV2 à 5400 TCID <sub>50</sub> /ml | 1000 × la LoD |
| Niveau 2 | 10                  | Positif pour le HSV2 à 1080 TCID <sub>50</sub> /ml | 200 × la LoD  |
| Niveau 3 | 10                  | Positif pour le HSV2 à 216 TCID <sub>50</sub> /ml  | 40 × la LoD   |
| Niveau 4 | 10                  | Positif pour le HSV2 à 43,2 TCID <sub>50</sub> /ml | 8 × la LoD    |
| Niveau 5 | 10                  | Positif pour le HSV2 à 16,2 TCID <sub>50</sub> /ml | 3 × la LoD    |
| Niveau 6 | 10                  | Positif pour le HSV1 à 590 TCID <sub>50</sub> /ml  | 10 × la LoD   |
| Niveau 7 | 15                  | Échantillons oraux négatifs pour le HSV1/HSV2      |               |
| Total    | 75                  |  |               |

Tous les membres du panel ont été randomisés, avec un testeur en aveugle, et ont été testés à l'aide du HSV 1&2 ELITE MGB® Kit sur l'instrument ELITE InGenius conformément au protocole de l'étude clinique.

L'étude du panel d'échantillons oraux artificiels du HSV2 a révélé que 49 des 50 échantillons oraux artificiels du HSV2 étaient positifs avec le HSV 1&2 ELITE MGB® Kit (détection de 98 %).

**Remarque:** les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et l'instrument seront présentés dans la Fiche technique du produit «HSV1&2 ELITE MGB® Kit», FTP RTK403ING.

**BIBLIOGRAPHIE**

- J Schiffer et al. (2015) *Principles and Practice of Infectious Diseases* 2: 1713-30  
 S. Vanjeri et al. (2012) *J Glob Infect Dis.* 4(3): 139-40  
 E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

**LIMITES DE LA PROCÉDURE**

Utiliser ce produit uniquement avec les échantillons cliniques suivants: échantillons de lésions de patients prélevés à l'écouvillon conservés dans un milieu UTM et M4, M4RT, M5 ou M6.

Les performances du produit n'ont pas été évaluées dans des échantillons de liquide céphalorachidien (LCR) et des échantillons de lésions muco-cutanées urétrales, oculaires et nasales.

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

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

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

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

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

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.

La détection du HSV1 s'avérerait être inhibée en présence de titres d'ADN du HSV2 de  $1 \times 10^3$  TCID<sub>50</sub>/ml ou plus dans l'étude d'interférence analytique.

Un résultat négatif obtenu avec ce produit signifie que l'ADN cible n'est pas détecté dans l'ADN extrait de l'échantillon; cependant, il ne peut pas être exclu que l'ADN cible présente 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 interférences potentielles provoquées par certains états spécifiques au patient peuvent entraîner des résultats incorrects.

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 au sein de la région du génome viral couverte par les amorces et les sondes du produit peuvent affecter la détection de l'ADN du virus HSV1 et/ou HSV2.

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

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

**PROBLÈMES ET SOLUTIONS**

| Réaction du contrôle positif non valide |  |
|---|--|
| Causes possibles                        | Solutions  |
| Erreur de paramétrage de la session.    | Vérifier la position du PCR Mix et du contrôle positif.<br>Vérifier le volume du PCR Mix et du contrôle positif. |
| Dégradation du contrôle positif.        | Utiliser une nouvelle aliquote du contrôle positif.  |
| Dégradation du PCR Mix.                 | Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.   |
| Erreur de l'instrument.                 | Contactez le service technique d'ELITechGroup.   |

| Réaction du contrôle négatif non valide  |  |
|--|--|
| Causes possibles   | Solutions  |
| Erreur de paramétrage de la session.   | Vérifier la position du PCR Mix et du contrôle négatif.<br>Vérifier le volume du PCR Mix et du contrôle négatif.                     |
| Contamination du contrôle négatif  | Utiliser une nouvelle aliquote d'eau de qualité biologie moléculaire.  |
| Contamination du PCR Mix.  | Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.   |
| Contamination de la zone d'extraction, des portoirs ou du «Bloc inventaire» (Inventory Block). | Nettoyer la surface avec des détergents aqueux, laver les blouses de laboratoire, remplacer les tubes à essai et les cônes utilisés. |
| Erreur de l'instrument.  | Contactez le service technique d'ELITechGroup.   |

| Réaction de l'échantillon non valide                              |  |
|---|--|
| Causes possibles  | Solutions  |
| Erreur de paramétrage de la session.                              | Vérifier la position du PCR Mix et de l'échantillon.<br>Vérifier le volume du PCR Mix et de l'échantillon.   |
| Dégradation du contrôle interne.                                  | Utiliser de nouvelles aliquotes 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, au cours d'une session «PCR uniquement» (PCR Only).<br>Répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, au cours d'une session «Extraction + PCR» (Extract + PCR). |
| Dégradation du PCR Mix.   | Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.   |
| Erreur de l'instrument.   | Contactez le service technique d'ELITechGroup.   |

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

**LÉGENDE DES SYMBOLES**

|   |  |
|---|--|
|    | Numéro de référence.   |
|    | Limite supérieure de température.  |
|    | Code de lot.   |
|    | Date de péremption (dernier jour du mois).   |
|    | Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> .   |
|    | Conforme aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> . |
|    | Contenu suffisant pour «N» tests.  |
|    | Attention, consulter le mode d'emploi.   |
|    | Contenu.   |
|    | Contrôle   |
|    | Contrôle positif   |
|  | Contrôle négatif   |
|  | Tenir à l'abri de la lumière du soleil.  |
|  | Fabricant.   |
|  | Avertissement  |
|  | Pays de fabrication  |

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

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

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

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