

Instructions for use

HSV1 ELITe MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN



REF RTS031PLD

UDI 08033891483586

CE IVD
0123

HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Rév.	Avis de modification	Date (jj/mm/aa)
22-R	Amélioration de la description des informations relatives aux résultats des tests de la LoD. Mise à jour du paragraphe « Autres produits requis » Mise à jour du paragraphe « Avis aux utilisateurs »	13/02/26
21-R	Mise à jour pour garantir la conformité aux exigences du Règlement (UE) 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> (IVDR). Mise à jour des performances analytiques et diagnostiques au paragraphe CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE Mise à jour de la section « Application » : <ul style="list-style-type: none"> Validation des produits en association avec les instruments ELITE InGenius (RÉF INT030) et ELITE BeGenius (RÉF INT040) avec les matrices de sang total, de plasma et de LCR. Validation des produits en association avec la matrice de sang total et les instruments suivants : ELITE GALAXY et ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument. <div style="background-color: #0056b3; height: 20px; width: 100%;"></div> <div style="border: 1px solid black; padding: 2px;">La composition du produit reste inchangée</div> Nouveaux graphiques et contenu du mode d'emploi.	10/03/25
20	Mise à jour de l'utilisation du produit pour la matrice de LCR en association avec le ELITE BeGenius (RÉF INT040) Confirmation de la valeur de LoD et ULoQ/LLoQ calculée sur la matrice de LCR.	29/09/22
19	Mise à jour de l'utilisation du produit en association avec le ELITE BeGenius (RÉF INT040) Mise à jour des CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE (page 21) : <ul style="list-style-type: none"> Modification de la limite de détection (LoD) Modification de la plage de mesure linéaire Ajout de la répétabilité Ajout de la reproductibilité 	21/12/21
18	Ajout de la référence au nouveau produit « HSV1 – ELITE Positive Control RF » (réf. CTR031PLD-R). Correction des résultats du tableau de la plage de mesure linéaire obtenus en association avec le système Cobas z480 (Roche).	18/12/20
17	Extension de l'utilisation du produit avec l'analyseur Roche Cobas z 480.	12/09/19
16	Modification du nombre de tubes et du volume du Contrôle positif (réf. CTR031PLD) : de 4 x 65 µL à 2 x 160 µL.	28/02/18
00 - 15	Développement de nouveaux produits et modifications ultérieures	-

NOTE!

Conformément à la directive IVDD, les lots de produit identifiés par les numéros de LOT suivants sont toujours mis sur le marché jusqu'à leur date de péremption en vertu de l'article 110 de l'IVDR. En cas de possession de ces lots de produit, contacter le personnel d'ELITechGroup pour demander la révision précédente des modes d'emploi correspondants.

<u>RÉF. DU PRODUIT</u>	<u>Numéro de lot</u>	<u>Date de péremption</u>
RTS031PLD	U0624-017	31/05/2026
RTS031PLD	U0125-105	31/12/2026

Conformément à la directive IVDD, les lots de produit du Contrôle positif et lots de produit des étalons toujours mis sur le marché (identifiés par les numéros de LOT indiqués dans les modes d'emploi du Contrôle positif et des étalons) sont techniquement compatibles avec la nouvelle version IVDR du kit d'amplification et peuvent être utilisés, jusqu'à épuisement, en association avec la nouvelle version IVDR du kit d'amplification et conformément à son application.

SOMMAIRE

1 APPLICATION	5
2 PRINCIPE DU TEST	5
3 DESCRIPTION DU PRODUIT	5
4 MATÉRIEL FOURNI	6
5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	6
6 AUTRES PRODUITS REQUIS	6
7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	7
8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES pour les ELITe InGenius et ELITe BeGenius	9
9 PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius	12
10 PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius	20
11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC LES ELITe InGenius et ELITe BeGenius	25
12 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES pour l'instrument ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument	36
13 PROCÉDURE AVEC L'INSTRUMENT ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument	37
14 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC L'INSTRUMENT ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument	42
15 BIBLIOGRAPHIE	44
16 LIMITES DE LA PROCÉDURE	45
17 PROBLÈMES ET SOLUTIONS	46
18 LÉGENDE DES SYMBOLES	50
19 AVIS AUX UTILISATEURS	50
20 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	50
Appendix A QUICK START GUIDE	52
Appendix B QUICK START GUIDE	57

1 APPLICATION

Le produit **HSV1 ELITE MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test quantitatif de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la **détection et la quantification de l'ADN du virus herpès simplex de type 1 (HSV1)** extrait d'échantillons cliniques.

Le test est validé en association avec les instruments **ELITE InGenius®** et **ELITE BeGenius®**, des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, de PCR en temps réel et d'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons humains de liquide céphalorachidien (LCR), de sang total prélevé sur EDTA et de plasma prélevé sur EDTA.

Le test est également validé en association avec l'instrument **ELITE GALAXY**, un système automatisé d'extraction et de paramétrage de PCR, et la plateforme de PCR en temps réel **ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**, en utilisant des échantillons humains de sang total prélevé sur EDTA.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic et à la surveillance des infections par le HSV1 chez les patients suspectés de présenter une infection ou surveillés pour une infection par le HSV1.

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

2 PRINCIPE DU TEST

Le test est une PCR quantitative en temps réel qui détecte l'ADN du HSV1 isolé à partir d'échantillons et amplifié à l'aide du réactif du test, le **HSV1 Q - PCR Mix**, qui contient des amorces et des sondes dotées de la technologie ELITE MGB®.

Les sondes ELITE MGB sont activées lorsqu'elles s'hybrident aux produits de PCR associés. **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** surveillent l'augmentation de la fluorescence et calculent les cycles seuils (Ct) ainsi que les températures de fusion (Tm). La quantité de HSV1 est calculée en se basant sur une courbe d'étalonnage enregistrée.

L'instrument **ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument** mesure et enregistre l'augmentation de l'émission de la fluorescence. Le traitement ultérieur des données permet la détection et la quantification du HSV1 dans l'échantillon primaire.

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

3 DESCRIPTION DU PRODUIT

Le **HSV1 ELITE MGB Kit** fournit le réactif du test, le **HSV1 Q-PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amorces et les sondes spécifiques pour :

- une région de la **glycoprotéine D (gpD)** du HSV1, détectée dans le Canal **HSV1** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée par le colorant FAM.
- le Contrôle interne, spécifique pour la **région du promoteur et de l'UTR 5'** du **gène de la bêta-globine humaine**, détecté dans le Canal **IC** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor® 525 (AP525).

Le **HSV1 Q-PCR Mix** contient également un tampon, du chlorure de magnésium, des nucléotides triphosphates, le fluorophore AP593 (utilisé à la place de ROX ou Cy5) en tant que référence passive pour la normalisation de la fluorescence, l'enzyme uracile N-glycosidase (UNG) pour inactiver toute contamination par le produit d'amplification et l'enzyme ADN polymérase « hot start » (démarrage à chaud). Le produit **HSV1 ELITE MGB Kit** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **96 tests** sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, en utilisant **20 µL** par réaction.

Le produit **HSV1 ELITE MGB Kit** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **100 tests sur d'autres systèmes**, en utilisant **20 µL** par réaction.

NOTE!

Un facteur de conversion permettant d'exprimer les résultats de l'analyse quantitative en unités internationales de HSV1, conformément au « 1^{er} étalon international de l'OMS pour l'ADN du HSV1 » (NIBSC, réf. 16/368, Royaume-Uni), est requis.

4 MATÉRIEL FOURNI

Tableau 1

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
HSV1 Q-PCR Mix réf. RTS031PLD	Mélange de réactifs pour la PCR en temps réel dans un tube doté d'un capuchon NATUREL	4 x 540 µL	-

5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.
- Agitateur de type vortex.
- Centrifugeuse de paillasse (~5 000 tr/min).
- Microcentrifugeuse de paillasse (~13 000 tr/min).
- Micropipettes et embouts stériles avec filtre pour aérosols ou embouts stériles à déplacement positif (plage de volumes : 0,5-1000 µL).
- Tubes stériles à capuchon vissant de 2,0 mL (Sarstedt, Allemagne, réf. 72.694.005).
- Tubes stériles à capuchon vissant de 0,5 mL (Sarstedt, Allemagne, réf. 72.730.005)
- Eau de qualité biologie moléculaire.

6 AUTRES PRODUITS REQUIS

Les réactifs pour l'extraction de l'ADN des échantillons, le contrôle interne d'extraction et d'inhibition, les contrôles positif et négatif d'amplification, les étalons d'ADN et les consommables ne sont **pas** fournis avec ce produit.

Pour l'extraction des acides nucléiques, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats des échantillons, les produits suivants sont requis :

Tableau 2

Instruments et logiciels	Produits et réactifs
<p>ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA réf. INT030)</p> <p>ELITE InGenius Software version 1.3.0.19 (ou versions ultérieures)</p> <p>HSV1 ELITE_STD, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs</p> <p>HSV1 ELITE_PC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif</p> <p>HSV1 ELITE_NC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif</p> <p>HSV1 ELITE_WB_200_100, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total</p> <p>HSV1 ELITE_PL_200_100, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma</p> <p>HSV1 ELITE_CSF_200_100, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de LCR</p>	<p>HSV1 - ELITE Standard (EG SpA, réf. STD031PLD)</p> <p>HSV1 - ELITE Positive Control (EG SpA, réf. CTR031PLD)</p> <p>ELITE InGenius SP200 (EG SpA, réf. INT032SP200)</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, réf. CTRCPE)</p> <p>Consommables pour les ELITE InGenius et ELITE BeGenius (se reporter au mode d'emploi des instruments ELITE InGenius et ELITE BeGenius)</p> <p>Consommables pour ELITE GALAXY (voir le mode d'emploi de l'instrument ELITE GALAXY)</p> <p>MicroAmp™ Fast Optical 96-Well Reaction Plate with Barcode, 0.1 mL (Life Technologies, réf. 4346906), des microplaques comprenant des puits de 0,1 mL et des feuilles de scellage adhésives pour l'amplification en temps réel</p>
<p>ELITE BeGenius (EG SpA réf. INT040)</p> <p>ELITE BeGenius Software version 2.3.0 (ou versions ultérieures)</p> <p>HSV1 ELITE_Be_STD, Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs</p> <p>HSV1 ELITE_Be_PC, Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif</p> <p>HSV1 ELITE_Be_NC, Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif</p> <p>HSV1 ELITE_Be_WB_200_100, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total</p> <p>HSV1 ELITE_Be_PL_200_100, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma</p> <p>HSV1 ELITE_Be_CSF_200_100, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de LCR</p>	
<p>ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument (ThermoFisher Scientific, réf. 4406985)</p> <p>ELITE GALAXY (EG SpA, réf. INT020) avec la version du logiciel 1.3.1 (ou versions ultérieures).</p> <p>Protocole d'extraction pour le ELITE GALAXY, xNA Extraction (Universel)</p>	

7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Ce produit est exclusivement réservé à une utilisation in vitro.

7.1 Avertissements et précautions d'ordre général

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

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

- Porter des vêtements et des gants de protection appropriés et se protéger les yeux et le visage,
- Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche,
- Ne pas manger, boire, fumer ou appliquer de produits cosmétiques dans les zones de travail,
- Se laver soigneusement les mains après toute manipulation des échantillons et des réactifs,
- Éliminer les réactifs restants et les déchets conformément aux réglementations en vigueur,
- Lire attentivement toutes les instructions indiquées avant d'exécuter le test,
- 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.

7.2 Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

Ne jamais transférer de blouses, de gants ni d'outils de laboratoire de la zone désignée pour l'amplification/la détection des produits d'amplification vers la zone désignée pour l'extraction/la préparation des réactions d'amplification.

Lorsque la session d'amplification doit être effectuée avec l'instrument 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument, il est nécessaire de disposer de zones distinctes pour l'extraction/la préparation des réactions d'amplification et pour l'amplification/la détection des produits d'amplification. Ne jamais introduire un produit d'amplification dans la zone réservée à l'extraction/la préparation des réactions d'amplification.

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

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

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

Les produits d'extraction doivent être manipulés de manière à éviter leur dispersion dans l'environnement et à prévenir toute contamination de la zone de travail de l'instrument.

Les PCR Cassettes (Cassettes de PCR) doivent être manipulées avec précaution et ne doivent jamais être ouvertes afin d'éviter la diffusion des produits de PCR et toute contamination croisée.

7.3 Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Tableau 3

Composant	Température de stockage	Utilisation après la première ouverture	Cycles de congélation/décongélation	Stabilité à bord de l'instrument (ELITE InGenius et ELITE BeGenius)
HSV1 Q-PCR Mix	-20 °C ou température plus basse (à l'abri de la lumière)	un mois	jusqu'à cinq	jusqu'à cinq sessions d'analyse distinctes* de trois heures chacune ou jusqu'à 7 heures consécutives (2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse)

* avec congélation intermédiaire.

8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES pour les ELITE InGenius et ELITE BeGenius

8.1 Échantillons

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

Tableau 4

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Sang total	EDTA	≤ 1 j	≤ 3 j	≤ 30 j	≤ 30 j
Plasma	EDTA	≤ 1 j	≤ 3 j	≤ 30 j	≤ 30 j
LCR	-	≤ 4 heures	≤ 4 heures	≤ 30 j	≤ 30 j

EDTA, acide éthylènediaminetétraacétique ; j, jour.

Même si des périodes de conservation plus longues à -70 °C sont possibles, tel que largement rapporté dans la littérature scientifique, leur application doit être évaluée en interne par les utilisateurs finaux de ce produit.

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

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

Tableau 5

Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
Sang total sur EDTA	ELITE InGenius	HSV1 ELITE_WB_200_100	copies/mL ou UI/mL	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITE BeGenius	HSV1 ELITE_Be_WB_200_100	copies/mL ou UI/mL	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
Plasma sur EDTA	ELITE InGenius	HSV1 ELITE_PL_200_100	copies/mL ou UI/mL	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITE BeGenius	HSV1 ELITE_Be_PL_200_100	copies/mL ou UI/mL	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
LCR	ELITE InGenius	HSV1 ELITE_CSF_200_100	copies/mL ou UI/mL	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITE BeGenius	HSV1 ELITE_Be_CSF_200_100	copies/mL ou UI/mL	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL

UI, unités internationales

NOTE!

Vérifier si le tube primaire et le volume de l'échantillon sont compatibles avec le ELITE InGenius ou le ELITE BeGenius, en suivant le mode d'emploi du kit d'extraction **ELITE InGenius SP200** (EG SpA, réf. INT032SP200).

Le volume de l'échantillon contenu dans un tube primaire varie selon le type de tube chargé. Se reporter au mode d'emploi du kit d'extraction pour obtenir de plus amples informations sur le paramétrage et l'exécution de la procédure d'extraction.

Si requis, 200 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube d'extraction (pour le ELITE InGenius) ou un tube Sarstedt de 2 mL (pour le ELITE BeGenius).

NOTE!

Le pipetage des échantillons dans le **tube d'extraction** ou le **tube Sarstedt de 2 mL** peut **entraîner une contamination**. Utiliser les pipettes appropriées et suivre toutes les recommandations indiquées à la section « 7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS page 7 ».

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

Se reporter au paragraphe « Substances potentiellement interférentes » de la section [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC LES ELITE InGenius et ELITE BeGenius page 25](#) pour vérifier les informations concernant les substances interférentes.

NOTE!

Ne pas utiliser d'échantillons prélevés sur héparine, qui est un inhibiteur connu de la transcription inverse et de la PCR.

8.2 Calibrateurs et contrôles de la PCR

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

- Pour la courbe d'étalonnage, utiliser les quatre niveaux du produit **HSV1 ELITE Standard** (non inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **HSV1 ELITE_STD** ou **HSV1 ELITE_Be_STD**.

NOTE!

Les concentrations des étalons Q – PCR Standards sont exprimées en copies/réaction (10⁵ copies/réaction, 10⁴ copies/réaction, 10³ copies/réaction, 10² copies/réaction). Se reporter au paragraphe « Incertitude de la courbe d'étalonnage » de la section 11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC LES ELITE InGenius et ELITE BeGenius page 25

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

- Pour le Contrôle positif, utiliser le produit **HSV1 - ELITE Positive Control** (non inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **HSV1 ELITE_PC** ou **HSV1 ELITE_Be_PC**.
- Pour le Contrôle négatif, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **HSV1 ELITE_NC** ou **HSV1 ELITE_Be_NC**.

NOTE!

Les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** permettent de générer et de stocker la courbe d'étalonnage et de valider les contrôles de la PCR pour chaque lot de réactifs de PCR.

Les courbes d'étalonnage expirent au bout de **60 jours**, après quoi il est nécessaire d'effectuer à nouveau l'étalonnage

Les résultats des contrôles de la PCR expirent au bout de **15 jours**, après quoi il est nécessaire de réanalyser les contrôles positif et négatif.

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

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

8.3 Contrôles de qualité

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

9 PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius

La procédure d'utilisation du **HSV1 ELITe MGB Kit** avec le **ELITe InGenius** comporte trois étapes :

Tableau 6

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

9.1 ÉTAPE 1 – Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

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

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

9.2 ÉTAPE 2 – Paramétrage de la session d'analyse

Le **HSV1 ELITe MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITe InGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

- A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),

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

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

NOTE!

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

Avant de paramétrer une analyse :

Décongeler les tubes de **PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer **24 tests**. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

Conserver le **PCR Mix** à l'abri de la lumière lors de la décongélation, car ce réactif est photosensible.

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

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
1	<p>Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Si requis, transférer 200 µL d'échantillon dans un tube d'extraction préalablement étiqueté.</p> <p>Décongeler les tubes de CPE nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions.</p>	<p>Décongeler le tube d'éluion contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.</p>
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 100 µL.
4	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
5	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
6	Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
7	Sélectionner la position de chargement de l'échantillon en tant que « Primary tube » (Tube primaire) ou « Extraction Tube » (Tube d'extraction) dans la colonne « Sample Position » (Position de l'échantillon). Vérifier que le « Dilution factor » (Facteur de dilution) est « 1 ».	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'éluion [ligne du bas]). Vérifier que le « Dilution factor » (Facteur de dilution) est « 1 ».
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9	Charger le CPE et le PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du CPE et du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	Charger le PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR), les cartouches d'extraction ELITe InGenius SP 200, et tous les consommables requis et échantillons à extraire.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes d'éluion avec les échantillons extraits.
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
15	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
16	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

	C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
1	Décongeler les tubes de Q-PCR Standard nécessaires (Cal1 : Q-PCR Standard 10 ² , Cal2 : Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3 : Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4 : Q-PCR Standard 10 ⁵) à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Contrôle positif à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Préparer le Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'éluion) fourni avec le ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 100 µL.
4	Pour le Q-PCR Standard, attribuer la « Track » (Position), sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du réactif.	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »). Saisir le numéro de lot et la date de péremption du Contrôle positif et de l'eau de qualité biologie moléculaire.
5	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).
6	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'éluion [ligne du bas]).	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'éluion [ligne du bas]).
7	Charger le PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	Charger le PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9	Vérifier les embouts dans le (s) « Tip Rack (s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans le (s) « Tip Rack (s) » (Compartiment (s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack (s) » si nécessaire.
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes de Q-PCR Standard.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR), le Contrôle positif et le Contrôle négatif.
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
14	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

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

NOTE!

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

NOTE!

À la fin de l'analyse, le **PCR Mix** peut être retiré de l'instrument, bouché et stocké à -20 °C ou à une température plus basse ou peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 7 heures (2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

NOTE!

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

NOTE!

Les étalons **Q - PCR Standard** peuvent être utilisés pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 2 heures chacune.

NOTE!

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

NOTE!

Le **Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

NOTE!

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

9.3 ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

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

At the end of the run, the "Results Display" screen is automatically shown. Cet écran présente les résultats et les informations de l'analyse. À partir de cet écran, les résultats peuvent être approuvés et les rapports imprimés ou enregistrés (« Sample Report » [Rapport échantillons] ou « Track Report » [Rapport des positions]). Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

NOTE!

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

Le **ELITE InGenius** génère les résultats à l'aide du **HSV1 ELITE MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

1. Validation de la courbe d'étalonnage,
2. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif,
3. validation des résultats des échantillons,
4. rapport des résultats de l'échantillon.

9.3.1 Validation de la courbe d'étalonnage

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

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

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

NOTE!

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

9.3.2 Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif d'amplification

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

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

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

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

NOTE!

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

NOTE!

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

9.3.3 Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELITE InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible (Canal **HSV1**) et le Contrôle interne (Canal **IC**) avec les paramètres de protocole de test (Assay Protocol) **HSV1 ELITE_WB_200_100** ou **HSV1 ELITE_PL_200_100** ou **HSV1 ELITE_CSF_200_100**. Les valeurs Ct des cibles résultantes sont converties en concentration.

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

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

1) Courbe d'étalonnage	Statut
HSV1 Q-PCR Standard	APPROUVÉ
2) Contrôle positif	Statut
HSV1 Positive Control	APPROUVÉ
3) Contrôle négatif	Statut
HSV1 Negative Control	APPROUVÉ

Les résultats des échantillons sont automatiquement interprétés par le **ELITE InGenius Software** en utilisant les paramètres du Assay Protocol (Protocole de test).

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

Pour chaque échantillon, le système rapporte une combinaison des messages suivants spécifiant si les ADN de l'agent pathogène sont détectés ou non détectés.

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
HSV1:DNA Detected, quantity equal to XXXcopies/mL or IU/mL (HSV1:ADN détecté, quantité égale à XXXcopies/mL ou IU/mL)	L'ADN du HSV1 a été détecté dans l'échantillon dans la plage de mesure du test ; sa concentration est celle affichée.
HSV1:DNA Detected, quantity below LLoQcopies/mL or IU/mL (HSV1:ADN détecté, quantité inférieure à LLoQcopies/mL ou IU/mL)	L'ADN du HSV1 a été détecté dans l'échantillon ; sa concentration est inférieure à la limite inférieure de quantification du test.
HSV1:DNA Detected, quantity beyond ULoQcopies/mL or IU/mL (HSV1:ADN détecté, quantité supérieure à ULoQcopies/mL ou IU/mL)	L'ADN du HSV1 a été détecté dans l'échantillon ; sa concentration est supérieure à la limite supérieure de quantification du test.
HSV1:DNA Not detected or below LoDcopies/mL or IU/mL (HSV1:ADN non détecté ou inférieur à LoDcopies/mL ou IU/mL)	L'ADN du HSV1 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN du HSV1 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Invalid - Retest Sample (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon).	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Contrôle Interne (en raison, par exemple, d'une extraction incorrecte ou d'un transfert d'inhibiteurs). Le test doit être répété.

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

S'il reste un volume d'éluat suffisant, l'éluat peut être à nouveau testé (pur ou dilué), par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR seulement). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'un nouvel échantillon en utilisant le mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) (se reporter à la section [17 PROBLÈMES ET SOLUTIONS page 46](#)).

Les échantillons rapportés comme « HSV1: DNA Not detected or below LoDcopies/mL or IU/mL (HSV1:ADN non détecté ou inférieur à LoDcopies/mL ou IU/mL) » sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter le HSV1. Dans ce cas, l'échantillon peut être négatif pour l'ADN du HSV1 ou l'ADN du HSV1 est présent à une concentration inférieure à la limite de détection de l'analyse (se reporter à la section [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC LES ELITE InGenius et ELITE BeGenius page 25](#)).

Les échantillons positifs pour l'ADN du HSV1 à une concentration inférieure à la limite de détection (et à la limite inférieure de quantification) de l'analyse, s'ils sont détectés, sont rapportés comme « HSV1:DNA Detected, quantity below LLoQcopies/mL or IU/mL » (HSV1:ADN détecté, quantité inférieure à LLoQcopies/mL ou IU/mL) (se reporter à la section [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC LES ELITE InGenius et ELITE BeGenius page 25](#)).

Les échantillons positifs pour l'ADN du HSV1 dans la plage de mesure linéaire sont détectés et rapportés comme « HSV1:DNA Detected, quantity equal to XXXcopies/mL or IU/mL » (HSV1:ADN détecté, quantité égale à XXXcopies/mL ou IU/mL) (se reporter à la section [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC LES ELITE InGenius et ELITE BeGenius page 25](#)).

Les échantillons positifs pour l'ADN du HSV1 qui sont au-dessus de la limite supérieure de quantification sont rapportés comme « HSV1:DNA Detected, quantity beyond ULoQcopies/mL or IU/mL » (HSV1:ADN détecté, quantité supérieure à ULoQcopies/mL ou IU/mL) (se reporter à la section [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC LES ELITE InGenius et ELITE BeGenius page 25](#)) et ne sont pas appropriés pour une quantification. Si nécessaire, l'échantillon peut être dilué avant l'extraction ou la PCR pour être testé à nouveau afin de générer des résultats compris dans la plage de mesure linéaire du test.

NOTE!

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

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

9.3.4 Rapport des résultats de l'échantillon

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

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

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

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

10 PROCÉDURE AVEC LE ELITE BeGenius

La procédure d'utilisation du **HSV1 ELITE MGB Kit** avec le **ELITE BeGenius** comporte trois étapes :

Tableau 7

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

10.1 ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

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

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

10.2 ÉTAPE 2 – Paramétrage de la session d'analyse

Le **HSV1 ELITE MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITE BeGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

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

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

NOTE!

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

Avant de paramétrer une analyse :

Décongeler les tubes de **PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer **24 tests**. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

Conserver le **PCR Mix** à l'abri de la lumière lors de la décongélation, car ce réactif est photosensible.

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

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
1	<p>Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Si requis, transférer 200 µL d'échantillon dans un tube Sarstedt de 2 mL préalablement étiqueté.</p> <p>Décongeler les tubes de CPE nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions.</p>	<p>Décongeler le tube d'éluat contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver le tube sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.</p>
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Retirer tous les « Racks » de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
4	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
5	Charger les échantillons dans le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons). (Remarque : lorsque des tubes secondaires « 2 mL Tubes » sont chargés, utiliser les adaptateurs bleus pour le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons).	Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Rack d'éluat).
6	Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 5 » (L5). Si nécessaire, insérer le « Sample ID » (ID échantillon) (SID) pour chaque « Position » utilisée. (Si des tubes secondaires sont chargés, les marquer « 2 mL Tube » (Tube de 2 mL). Si les tubes secondaires ne comportent pas de codes-barres, saisir manuellement le « Sample ID » [ID échantillon]).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'éluat) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (Volume d'éluat extrait).
7	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluat de l'extraction) est de 100 µL.	Non applicable
9	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
11	En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6.	En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6.
12	Charger les « Elution tubes » (Tubes d'éluion) dans le « Elution Rack » (Rack d'éluion) (les tubes d'éluion peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité).	Non applicable
13	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'éluion) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure en utilisant la « Lane 2 » (L2).	Non applicable
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Non applicable
15	Charger le CPE et le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion).
16	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque PCR Mix et/ou CPE, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
17	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
18	Vérifier les embouts dans le (s) « Tip Rack (s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans le (s) « Tip Rack (s) » (Compartiment (s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le (s) « Tip Rack (s) » si nécessaire.
19	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
20	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
21	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
22	Charger le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITe InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis.	Non applicable
23	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
24	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

	C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
1	Décongeler les tubes de Q-PCR Standard nécessaires (Cal1 : Q-PCR Standard 10 ² , Cal2 : Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3 : Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4 : Q-PCR Standard 10 ⁵) à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Contrôle positif à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Préparer le Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'éluion) fourni avec le ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
4	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
5	Charger les tubes de Q-PCR Standard dans le « Elution Rack » (Rack d'éluion).	Charger les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif dans le « Elution Rack » (Rack d'éluion).
6	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'éluion) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'éluion) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
7	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
9	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
10	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion).
11	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion) dans la « Lane 2 » (L2) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion) dans la « Lane 2 » (L2) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
15	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
16	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

	C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
17	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
18	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

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

NOTE!

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

NOTE!

À la fin de l'analyse, le **PCR Mix** peut être retiré de l'instrument, bouché et stocké à -20 °C ou à une température plus basse ou peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 7 heures (2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

NOTE!

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

NOTE!

Les étalons **Q - PCR Standard** peuvent être utilisés pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 2 heures chacune.

NOTE!

À la fin de l'analyse, le **Positive Control** restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C ou à une température plus basse. Éviter tout déversement du **Positive Control**. Le **Negative Control** restant doit être jeté.

NOTE!

Le **Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

NOTE!

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

10.3 ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

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

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

NOTE!

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

Le **ELITE BeGenius** génère les résultats à l'aide du **HSV1 ELITE MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

1. Validation de la courbe d'étalonnage,
2. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif,
3. validation des résultats des échantillons,
4. rapport des résultats de l'échantillon.

NOTE!

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

11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC LES ELITE InGenius et ELITE BeGenius

11.1 Limite de détection (LoD)

Sang total prélevé sur EDTA

La limite de détection (LoD) de l'analyse en association avec du sang total prélevé sur EDTA a été déterminée sur les instruments **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** en testant une matrice de sang total prélevé sur EDTA négative, dopée avec un matériel de référence du HSV1 (1^{er} étalon international de l'OMS pour l'ADN du HSV1, NIBSC réf. 16/368). Une analyse de régression des probits a été réalisée sur les résultats, et la LoD a été estimée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 %.

Les résultats pour la matrice de sang total prélevé sur EDTA sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 8 Limite de détection avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius pour le sang total prélevé sur EDTA

Échantillon	LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
		limite inférieure	limite supérieure
sang total prélevé sur EDTA	46 UI/mL	27 UI/mL	100 UI/mL
	230 copies/mL	135 copies/mL	500 copies/mL

Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour la cible du HSV1 ELITE MGB Kit sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius pour la matrice de sang total prélevé sur EDTA.

La sensibilité analytique, exprimée en copies/mL pour la matrice de sang total prélevé sur EDTA, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué au paragraphe [11.10 Facteur de conversion en unités internationales page 33](#)

Plasma prélevé sur EDTA et LCR

La limite de détection (LoD) de l'amplification de l'ADN permet de détecter la présence d'environ 10 copies (1 UI) dans 20 µL d'ADN ajoutés à la réaction d'amplification. La valeur de LoD théorique de l'analyse, en association avec des échantillons de plasma prélevé sur EDTA et de liquide céphalorachidien (LCR), a été définie et vérifiée sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius en testant un pool d'échantillons de plasma prélevé sur EDTA et de LCR négatifs, dopés à une concentration de 25 UI/mL avec un matériel de référence du HSV1 (1^{er} étalon international de l'OMS pour l'ADN du HSV1, NIBSC réf. 16/368).

Les résultats pour les matrices de plasma prélevé sur EDTA et de LCR sont présentés dans les tableaux suivants.

Tableau 9 Limite de détection avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius pour le plasma prélevé sur EDTA et le LCR

Matrice	LoD
plasma prélevé sur EDTA	25 UI/mL
	250 copies/mL
LCR	25 UI/mL
	250 copies/mL

Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour la cible du HSV1 ELITE MGB Kit sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius pour le plasma EDTA et le LCR.

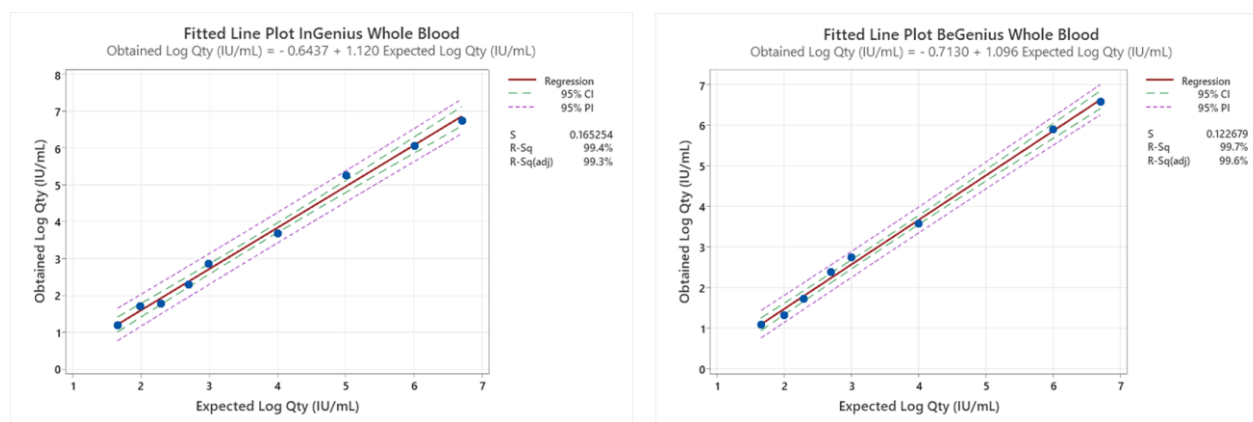
La sensibilité analytique, exprimée en copies/mL pour les matrices de plasma prélevé sur EDTA et de LCR, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique (0,1 UI/copies) indiqué au paragraphe [11.10 Facteur de conversion en unités internationales page 33](#)

11.2 Plage de mesure linéaire et limites de quantification

La plage de mesure linéaire de l'analyse a été déterminée sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, en association avec des échantillons de sang total prélevé sur EDTA, de plasma prélevé sur EDTA et de liquide céphalorachidien, en utilisant un panel de matériel de référence du HSV1 (Herpes Simplex Virus Type 1 Culture Fluid Heat Inactivated, ZeptoMetrix, en association avec le plasma prélevé sur EDTA et le LCR ; 1^{er} étalon international de l'OMS pour l'ADN du HSV1, NIBSC réf. 16/368, Royaume-Uni, en association avec le sang total prélevé sur EDTA) dans des matrices négatives pour l'ADN du HSV1.

Les résultats de chaque matrice sont présentés aux paragraphes suivants.

Sang total :



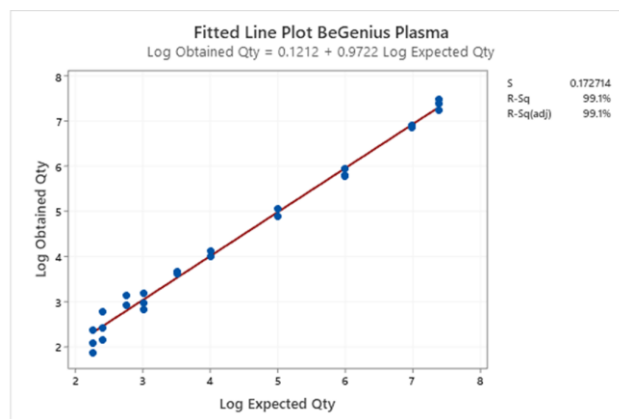
La plage de mesure linéaire, exprimée en copies/mL pour le sang total prélevé sur EDTA, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué au paragraphe [11.10 Facteur de conversion en unités internationales page 33](#)

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 10 Plage de mesure linéaire pour des échantillons de sang total avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius

Unité	Limite inférieure	Limite supérieure
UI/mL	46	5 000 000
copies/mL	230	25 000 000

Plasma :



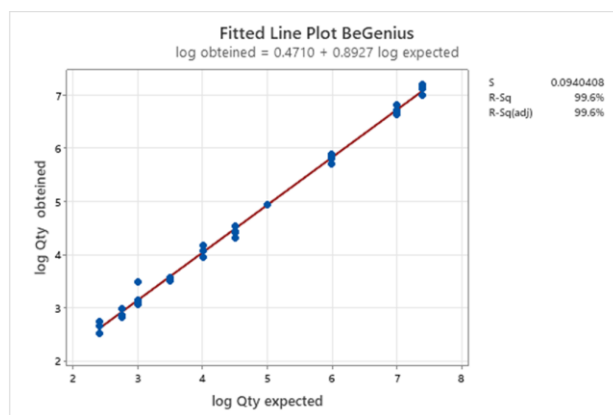
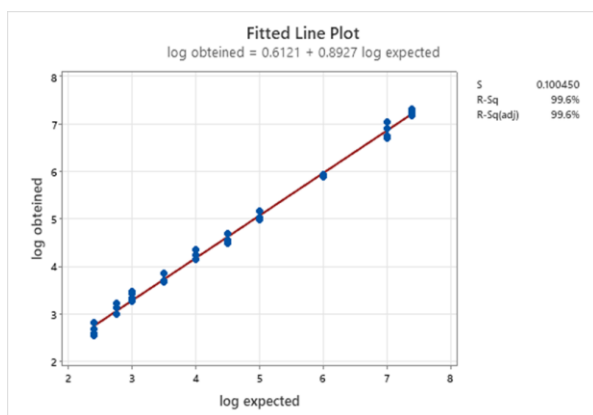
La plage de mesure linéaire, exprimée en copies/mL pour le plasma prélevé sur EDTA, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué au paragraphe [11.10 Facteur de conversion en unités internationales page 33](#)

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 11 Plage de mesure linéaire pour les échantillons de plasma avec les instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Unité	Limite inférieure	Limite supérieure
UI/mL	25	2 500 000
copies/mL	250	25 000 000

LCR :



La plage de mesure linéaire, exprimée en copies/mL, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué au paragraphe [11.10 Facteur de conversion en unités internationales page 33](#)

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 12 Plage de mesure linéaire pour les échantillons de LCR avec les ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Unité	Limite inférieure	Limite supérieure
UI/mL	25	2 500 000
copies/mL	250	25 000 000

11.3 Incertitude de la courbe d'étalonnage

La valeur d'incertitude de la courbe d'étalonnage a été calculée en combinant les erreurs aléatoires (EC) de toutes les quantifications de niveau et en multipliant le résultat par le facteur de couverture $k = 2$ (incertitude combinée élargie). Celle-ci est de 0,3030 Log copies/réaction.

Tableau 13

Niveaux de la courbe d'étalonnage	Obtenus	EC	Incertitude combinée élargie
	Log copies/réaction		
HSV1 Q - PCR Standard 10 ⁵	5,0424	0,0945	0,3030
HSV1 Q - PCR Standard 10 ⁴	3,9368	0,0703	
HSV1 Q - PCR Standard 10 ³	2,9500	0,0651	
HSV1 Q - PCR Standard 10 ²	1,9131	0,0696	

11.4 Inclusivité : efficacité de détection et de quantification de différents génotypes

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

11.5 Organismes potentiellement interférents : réactivité croisée

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

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 14

ID échantillon	HHV6 Pos./Rép.	Résultat
EBV	0/3	Aucune réactivité croisée
CMV	0/3	Aucune réactivité croisée
HHV7	0/3	Aucune réactivité croisée
HHV8	0/3	Aucune réactivité croisée
HSV1	0/3	Aucune réactivité croisée
HSV2	0/3	Aucune réactivité croisée
VZV	0/3	Aucune réactivité croisée
BKV	0/3	Aucune réactivité croisée
ADV	0/3	Aucune réactivité croisée
PVB19	0/3	Aucune réactivité croisée
VIH1	0/3	Aucune réactivité croisée
VHB	0/3	Aucune réactivité croisée

Tableau 14 (continued)

ID échantillon	HHV6 Pos./Rép.	Résultat
VHC	0/3	Aucune réactivité croisée
JCV	0/3	Aucune réactivité croisée
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0/3	Aucune réactivité croisée
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	Aucune réactivité croisée
<i>Candida albicans</i>	0/3	Aucune réactivité croisée

Tous les organismes potentiellement interférents testés n'ont montré aucune réactivité croisée pour l'amplification de la cible HHV6 à l'aide du HSV1 ELITe MGB Kit.

11.6 Organismes potentiellement interférents : inhibition

L'inhibition potentielle exercée par des organismes non souhaitables qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques a été évaluée par une analyse *in silico*. L'analyse a montré une absence d'homologie significative avec d'autres organismes non souhaitables (virus, procaryotes, champignons, phages, invertébrés et humain). On ne s'attend donc à aucune inhibition.

L'absence d'inhibition par des organismes potentiellement interférents a également été vérifiée par l'analyse d'un panel d'organismes non souhaitables à un titre élevé.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 15

ID échantillon	HHV6 Pos./Rép.	Résultat
Référence HHV6	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + EBV	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + CMV	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + HHV7	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + HHV8	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + HSV1	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + HSV2	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + VZV	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + BKV	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + ADV	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + PVB19	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + VIH1	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + VHB	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + VHC	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + JCV	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + <i>Aspergillus fumigatus</i>	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + <i>Staphylococcus aureus</i>	3/3	Aucune inhibition
HHV6 + <i>Candida albicans</i>	3/3	Aucune inhibition

Tous les organismes potentiellement interférents testés n'ont montré aucune inhibition de la détection et de la quantification de la cible HHV6 à l'aide du HSV1 ELITe MGB Kit.

11.7 Substances potentiellement interférentes : inhibition

L'inhibition potentielle du test exercée par des substances interférentes (endogènes et exogènes) qui pourraient être présentes dans des échantillons cliniques a été évaluée par l'analyse d'un panel de substances à une concentration pertinente dans des échantillons positifs pour le HSV1.

Les résultats de chaque matrice sont présentés aux paragraphes suivants.

Tableau 16 Sang total

Échantillons	HSV1 Pos./Rép.	Résultat
Azithromycine	5/5	Aucune interférence
Ganciclovir	5/5	Aucune interférence
Éthanol	5/5	Aucune interférence
Ampicilline	5/5	Aucune interférence
Fluconazole	5/5	Aucune interférence
Cyclosporine A	5/5	Aucune interférence
Acyclovir	5/5	Aucune interférence
Vancomycine	5/5	Aucune interférence
Héparine	5/5	Aucune interférence
EDTA	5/5	Aucune interférence

Les substances testées n'entraînent aucune interférence avec l'amplification du HSV1 ou du Contrôle interne.

Tableau 17 Plasma

Échantillon	HSV1 Pos./Rép.	Résultat
Panel 1 Plasma EDTA	5/5	Aucune interférence
Panel 2 Sang hémolytique, faible concentration	5/5	Aucune interférence
Panel 3 Sang hémolytique, concentration modérée	5/5	Aucune interférence
Panel 4 Sang hémolytique, concentration élevée	5/5	Aucune interférence
Panel 5 Plasma hépariné	5/5	Interférence
Panel 6 Plasma lipémique	5/5	Aucune interférence
Panel 7 Plasma ictérique	5/5	Aucune interférence

Le test a montré que toutes les substances, à l'exception de l'héparine, n'entraînent aucune interférence avec la détection et la quantification de la cible HSV1 à l'aide du HSV1 ELITe MGB Kit sur les échantillons de plasma.

Tableau 18 LCR

Échantillons	HSV1 Pos./Rép.	Résultat
Azithromycine	5/5	Aucune interférence
Ganciclovir	5/5	Aucune interférence
Éthanol	5/5	Aucune interférence
Ampicilline	5/5	Aucune interférence
Fluconazole	5/5	Aucune interférence
Cyclosporine A	5/5	Aucune interférence
Acyclovir	5/5	Aucune interférence
Vancomycine	5/5	Aucune interférence
Sang total humain	5/5	Aucune interférence

Les substances testées n'entraînent aucune interférence avec l'amplification du HSV1 ou du Contrôle interne.

11.8 Répétabilité

La répétabilité intra-session et inter-sessions du test a été évaluée sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de sang total prélevé sur EDTA, incluant un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du HSV1 (Herpes Simplex Virus Type 1 Culture Fluid Heat Inactivated, ZeptoMetrix).

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

Tableau 19 Répétabilité intra-session avec le ELITE InGenius

Échantillon	HSV1				
	N	Moyenne Ct HSV1	EC Ct HSV1	% CV Ct HSV1	Concordance (%)
Négatif	8	-	-	-	100 %
3 x la LoD	8	36,31	0,51	1,40	100 %
10 x la LoD	8	34,25	0,42	1,22	100 %

Tableau 20 Répétabilité intra-session avec le ELITE BeGenius

Échantillon	HSV1				
	N	Moyenne Ct HSV1	EC Ct HSV1	% CV Ct HSV1	Concordance (%)
Négatif	8	-	-	-	100 %
3 x la LoD	8	37,82	0,65	1,73	100 %
10 x la LoD	8	35,82	0,47	1,32	100 %

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

Tableau 21 Répétabilité inter-sessions avec le ELITe InGenius

Échantillon	HSV1 - Jours 1-2				
	N	Moyenne Ct HSV1	EC Ct HSV1	% CV Ct HSV1	Concordance (%)
Négatif	16	-	-	-	100 %
3 x la LoD	16	36,15	0,52	1,44	100 %
10 x la LoD	16	34,24	0,42	1,21	100 %

Tableau 22 Répétabilité inter-sessions avec le ELITe BeGenius

Échantillon	HSV1 - Jours 1-2				
	N	Moyenne Ct HSV1	EC Ct HSV1	% CV Ct HSV1	Concordance (%)
Négatif	16	-	-	-	100 %
3 x la LoD	16	37,53	0,64	1,71	100 %
10 x la LoD	16	35,55	0,53	1,50	100 %

Dans le test de répétabilité, le HSV1 ELITe MGB Kit a détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 5 %.

11.9 Reproductibilité

La reproductibilité du test a été évaluée sur les ELITe InGenius et ELITe BeGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de sang total prélevé sur EDTA négatifs ou dopés avec un matériel de référence du HSV1 (Herpes Simplex Virus Type 1 Culture Fluid Heat Inactivated, ZeptoMetrix).

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

Tableau 23 Reproductibilité inter-instruments avec le ELITe InGenius

Échantillon	HSV1				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	8	-	-	-	100 %
3 x la LoD	8	37,14	0,66	1,79	100 %
10 x la LoD	8	30,88	0,55	1,79	100 %

Tableau 24 Reproductibilité inter-instruments avec le ELITe BeGenius

Échantillon	HSV1				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	8	-	-	-	100 %
3 x la LoD	8	37,26	0,59	1,58	100 %
10 x la LoD	8	36,12	0,79	2,18	100 %

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

Tableau 25 Reproductibilité inter-lots avec le ELITE InGenius

Échantillon	HSV1 - Lot 1-2				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	8	-	-	-	100 %
3 x la LoD	8	36,99	0,61	1,64	100 %
10 x la LoD	8	34,71	0,53	1,51	100 %

Tableau 26 Reproductibilité inter-lots avec le ELITE BeGenius

Échantillon	HSV1 - Lot 1-2				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	8	-	-	-	100 %
3 x la LoD	8	37,06	0,61	1,64	100 %
10 x la LoD	8	35,73	0,28	0,79	100 %

Dans le test de reproductibilité, le HSV1 ELITE MGB Kit a détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 5 %.

11.10 Facteur de conversion en unités internationales

Le facteur de conversion pour indiquer les résultats quantitatifs en unités internationales/mL à partir d'une valeur en copies/mL a été calculé, pour chaque matrice, en utilisant le matériel de référence certifié et étalonné « 1^{er} étalon international de l'OMS pour l'ADN du HSV1 » (NIBSC, réf. 16/368).

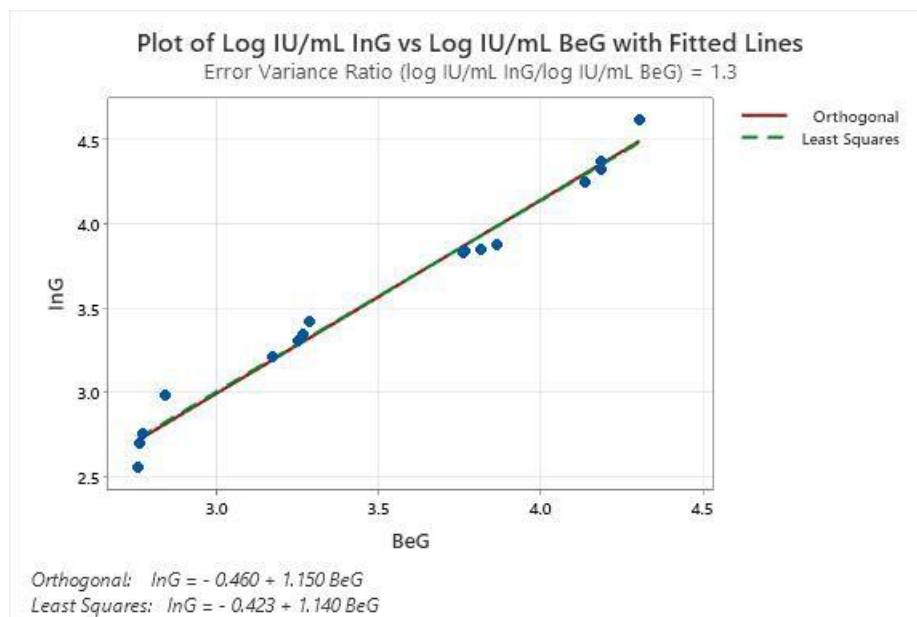
Les résultats de chaque matrice sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 27 Facteur de conversion en unités internationales avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius

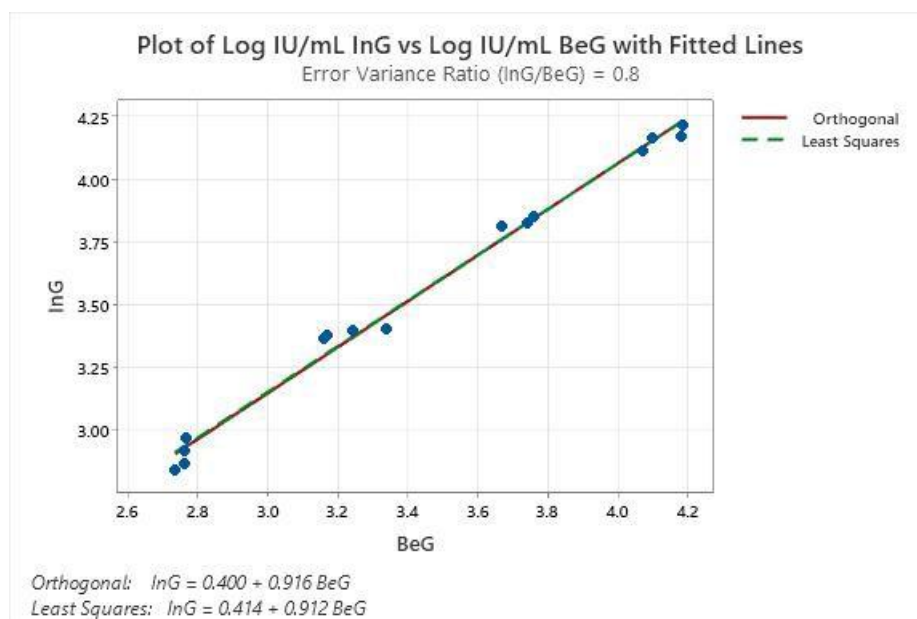
Matrice	Fc (UI/copies)
sang total	0,2
plasma	0,1
LCR	0,1

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

Les résultats de chaque matrice sont présentés aux paragraphes suivants.

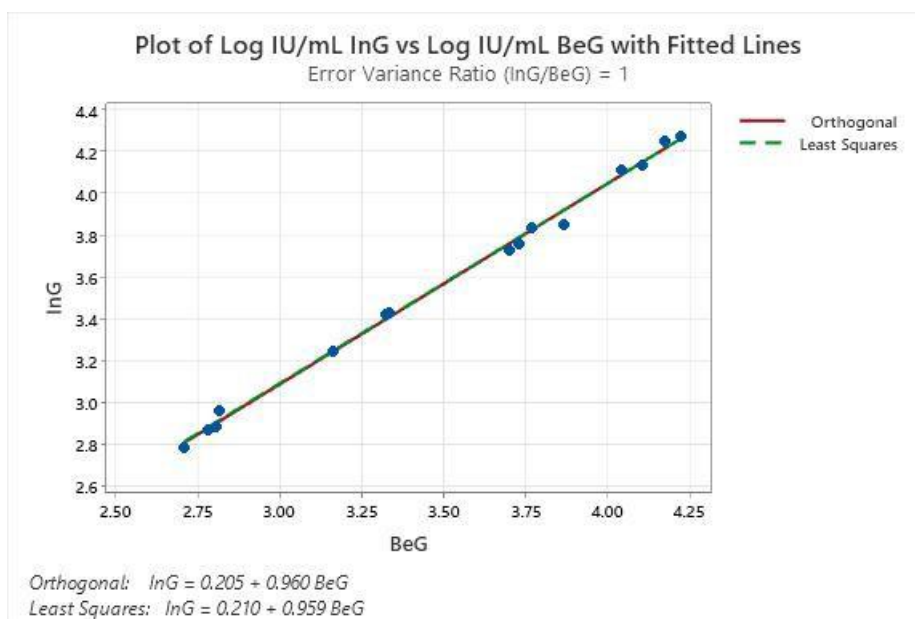
Sang total

L'analyse de régression orthogonale générerait une ordonnée à l'origine de -0,460 (IC à 95 % : -0,739, 0,108) et une pente de 1,150 (IC à 95 % : 1,0509, 1,2285).

Plasma :

L'analyse de régression orthogonale générerait une ordonnée à l'origine de 0,400 (IC à 95 % : 0,239, 0,589) et une pente de 0,916 (IC à 95 % : 0,862, 0,962).

LCR :



L'analyse de régression orthogonale génère une ordonnée à l'origine de 0,205 (IC à 95 % : 0,091, 0,330) et une pente de 0,960 (IC à 95 % : 0,925, 0,992).

11.11 Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons négatifs, a été évaluée en association avec le **ELITE InGenius** en analysant des échantillons cliniques certifiés négatifs ou présumés négatifs pour l'ADN du HSV1. Étant donné que les performances analytiques du **ELITE BeGenius** sont équivalentes à celles du **ELITE InGenius**, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la spécificité diagnostique du test obtenue en association avec le ELITE InGenius s'applique également au ELITE BeGenius.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 28 Spécificité diagnostique

Échantillons	N	Positif	Négatif	Spécificité diagnostique (%)
Sang total prélevé sur EDTA négatif pour l'ADN du HSV1	117	0	117	100
Plasma prélevé sur EDTA négatif pour l'ADN du HSV1	82	0	82	100
LCR négatif pour l'ADN du HSV1	68	0	68	100

La valeur seuil Ct de l'IC a été définie à 35 pour les échantillons de sang total prélevé sur EDTA, de plasma prélevé sur EDTA et les échantillons de LCR lorsqu'ils ont été testés sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius.

11.12 Sensibilité diagnostique : confirmation des échantillons positifs

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en association avec le **ELITE InGenius** en analysant des échantillons cliniques certifiés positifs pour l'ADN du HSV1 ou dopés avec un matériel de référence. Étant donné que les performances analytiques du **ELITE BeGenius** sont équivalentes à celles du **ELITE InGenius**, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la sensibilité diagnostique du test obtenue en association avec le ELITE InGenius s'applique également au ELITE BeGenius.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 29 Sensibilité diagnostique

Échantillons	N	Positifs	Négatifs	Sensibilité diagnostique (%)
Sang total prélevé sur EDTA positif pour l'ADN du HSV1	23	23	0	100
Sang total prélevé sur EDTA dopé avec le HSV1	27	27	0	
Plasma prélevé sur EDTA dopé avec le HSV1	50	50	0	100
LCR positif pour l'ADN du HSV1	4	4	0	100
LCR dopé avec le HSV1	48	48	0	

NOTE!

Les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et les instruments sont présentés dans la Fiche technique du produit « HSV1 ELITe MGB® Kit », FTP 031PLD.

12 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES pour l'instrument ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument

12.1 Échantillons

Les échantillons et les méthodes d'extraction des acides nucléiques ci-dessous ont été validés avec le **HSV1 ELITe MGB Kit** sur l'instrument ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument.

Tableau 30

Type d'échantillon	Kit/Méthode	Protocole	Volume initial (µL)	Volume d'élution (µL)	Volume minimum du tube primaire (µL)	Instructions spéciales
Sang total	ELITe GALAXY	xNA Extraction (Universal)	300	200	400-650	Ajouter 10 µL/ échantillon de CPE à la solution IC + véhicule

12.2 Substances interférentes

L'ADN extrait de l'échantillon ne doit pas contenir d'héparine, d'hémoglobine, de dextrans, de Ficoll®, d'éthanol ou de 2-propanol afin de prévenir les problèmes d'inhibition et la possibilité de génération fréquente de résultats non valides.

La présence d'une grande quantité d'ADN génomique humain dans l'ADN extrait de l'échantillon peut inhiber la réaction d'amplification.

Il n'existe actuellement aucune donnée disponible en ce qui concerne l'inhibition provoquée par des médicaments antiviraux, antibiotiques, de chimiothérapie ou immunosuppresseurs.

Ne pas utiliser d'échantillons prélevés sur héparine, qui est un inhibiteur connu de la transcription inverse et de la PCR.

12.3 Contrôles d'amplification

Il est indispensable de valider chaque session d'amplification avec une réaction de Negative Control et une réaction de Positive Control.

Pour le Negative Control, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) pour l'ajouter à la réaction à la place de l'ADN extrait de l'échantillon.

Pour le Positive Control, utiliser le produit **HSV1 - ELITePositive Control** ou le produit **HSV1 - ELITe Standard**.

12.4 Contrôles de qualité

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

13 PROCÉDURE AVEC L'INSTRUMENT ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument

13.1 Paramétrage de la session d'amplification en temps réel

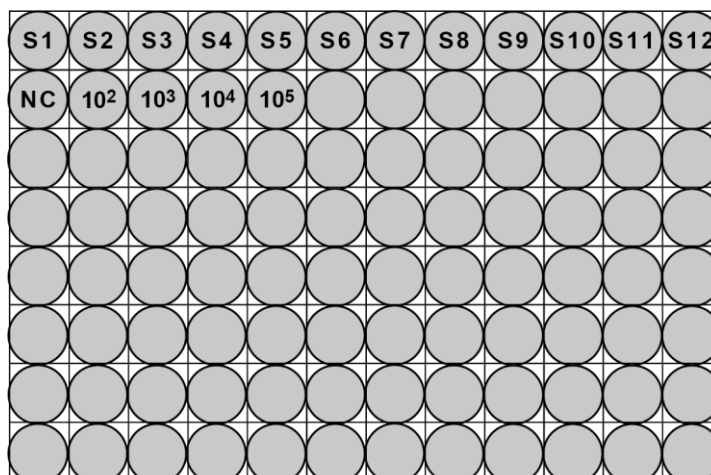
Avant de commencer la session d'analyse, se reporter à la documentation de l'instrument pour :

- mettre l'instrument en marche, puis l'ordinateur, ouvrir le logiciel dédié et une session de « absolute quantification » (quantification absolue) et choisir le « Run mode: Fast 7500 » (Mode d'exécution : Fast 7500) ;
- paramétrer (à l'aide du « Detector Manager » [Gestionnaire de détecteur]) : le « detector » (détecteur) pour la sonde HSV1 avec le « reporter » (rapporteur) = « FAM » et le « quencher » (désactivateur) = « none » (aucun) (non fluorescent) et le nommer « HSV1 » ;
- paramétrer (à l'aide du Detector Manager [Gestionnaire de détecteur]) : le « detector » (détecteur) pour la sonde du contrôle interne, le « reporter » (rapporteur) = « VIC » (AP525 est analogue à VIC), et le « quencher » (désactivateur) = « none » (aucun) (non fluorescent) et le nommer « IC » ;
- pour chaque puits utilisé dans la microplaque, paramétrer (à l'aide du Well Inspector [Inspecteur de puits]) : le « detector » (détecteur) (fluorescence à mesurer), la « passive reference » (référence passive) = « Cy5 » (AP593 est utilisé à la place de Cy5, pour la normalisation des niveaux de fluorescence) et le type de réaction (échantillon, contrôle négatif, contrôle positif ou étalon en quantité connue).

NOTE!

Afin de quantifier l'ADN dans l'échantillon de départ, inclure un ensemble de réactions en utilisant les étalons **Q-PCR Standards** (10^5 copies/réaction, 10^4 copies/réaction, 10^3 copies/réaction, 10^2 copies/réaction) pour obtenir la **courbe d'étalonnage**.

L'exemple ci-dessous montre comment paramétrer l'analyse quantitative de 12 échantillons.



Légende : **S1 -S12** : échantillons à analyser ; **NC** : Negative Control d'amplification ;

10² : étalon à 10² copies/réaction ; **10³** : étalon à 10³ copies/réaction ; **10⁴** : étalon à 10⁴ copies/réaction ; **10⁵** : étalon à 10⁵ copies/réaction.

Se reporter à la documentation de l'instrument pour définir les paramètres du **cycle thermique** (Instrument > Thermal Cycler Protocol > Thermal Profile [Instrument > Protocole du thermocycleur > Profil thermique]) :

- ajouter une **extension de 20 secondes à 72 °C** (Add Step [Ajouter étape]) ;

NOTE!

Remarque : l'acquisition de la fluorescence doit être paramétrée pendant l'étape d'hybridation à 60 °C (Instrument > Thermal Cycler Protocol > Settings > Data Collection [Instrument > Protocole du thermocycleur > Paramètres > Collecte de données]).

- modifier les températures et les temps du cycle thermique comme indiqué dans le tableau « **Cycle thermique** » ;
- paramétrer le nombre de cycles à **45** ;
- paramétrer le volume d'échantillon à **30 µL** ;
- facultatif : ajouter une étape de dissociation (Add Dissociation Stage [Ajouter étape de dissociation]), paramétrer la température de départ à **40 °C** et la température de fin à **80 °C**.

Tableau 31 Cycle thermique

Étape	Températures	Temps
Décontamination	50 °C	2 min.
Dénaturation initiale	94 °C	2 min.
Amplification et détection (45 cycles)	94 °C	10 s
	60 °C (acquisition de la fluorescence)	30 s
	72 °C	20 s
Dissociation (facultatif)	95 °C	15 s
	40 °C	1 min.
	80 °C	15 s
	60 °C	15 s

13.2 Paramétrage de la session d'analyse de PCR en temps réel

(Effectuée par l'instrument **ELITE GALAXY**)

Pour procéder au paramétrage de la session d'analyse de PCR :

- décongeler les tubes de **Q-PCR Mix** requis pour la session d'analyse (le contenu de chaque tube est suffisant pour **25 réactions**).
- décongeler les tubes de **Contrôle positif** (analyse qualitative : détection de l'ADN extrait) ou de **Q - PCR Standard** (analyse quantitative : quantification de l'ADN extrait)
- mélanger délicatement les réactifs et centrifuger le contenu pendant 5 secondes
- préparer le **Contrôle négatif** (non fourni) conformément au mode d'emploi de l'instrument
- préparer une **microplaque de Q-PCR**. Manipuler la microplaque avec des gants non poudrés et veiller à ne pas endommager les puits

NOTE!

Pour préparer la PCR sur l'instrument **ELITE GALAXY**, charger la microplaque d'éluion contenant les échantillons d'ADN extraits, les réactifs et la **microplaque de Q-PCR** comme indiqué dans le manuel d'utilisation de l'instrument et suivre les étapes indiquées par la GUI.

L'instrument effectue automatiquement le paramétrage de la PCR en distribuant, dans chaque puits de la **microplaque de Q-PCR** :

- **20 µL de Q-PCR Mix**
- **20 µL d'ADN extrait/Q-PCR Standard/Contrôles**

NOTE!

Si le Q-PCR Mix n'est pas utilisé en intégralité, conserver le volume restant dans l'obscurité à -20 °C pendant un mois au maximum. Congeler et décongeler le Q-PCR Mix **5 FOIS** au maximum.

Une fois le paramétrage de la PCR effectué par l'instrument :

- sceller la **microplaque de Q-PCR** avec un film adhésif optique
- transférer la **microplaque de Q-PCR** sur l'instrument **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument** et lancer la PCR. Enregistrer le fichier d'analyse avec un nom unique et reconnaissable (p. ex., « année-mois-jour-CIBLE-EGSpA »)

NOTE!

À la fin de la PCR, la **microplaque de Q-PCR** doit être éliminée conformément à l'ensemble des réglementations gouvernementales et environnementales. Afin d'éviter de renverser les produits de la PCR, le **film adhésif optique ne doit pas être retiré de la microplaque de Q-PCR**.

13.3 Paramètres généraux pour l'analyse des résultats

Avant de commencer l'analyse, se reporter à la documentation de l'instrument pour :

- régler manuellement la plage de calcul pour la **Baseline** (Référence) (niveau de bruit de fond de la fluorescence) du cycle 6 au cycle 15 (Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle [Résultats > Tracé d'amplification > delta Rn vs Cycle]) ;

NOTE!

La fluorescence FAM de la sonde du HSV1 dans un échantillon contenant une forte concentration d'ADN du HSV1 peut commencer à augmenter avant le cycle 15. Dans ce cas, réduire la plage de calcul de la **Baseline** (Référence) au cycle auquel la fluorescence FAM de l'échantillon commence à augmenter (Results > Component [Résultats > Composant]).

- paramétrer manuellement les seuils pour les détecteurs :

paramétrer le **seuil** « HSV1 » du détecteur FAM à **0,2** ;

paramétrer le **seuil** « IC » du détecteur VIC à **0,1**.

Le cycle de PCR pendant lequel le niveau de fluorescence d'un échantillon atteint la valeur **seuil** détermine le **cycle seuil (Ct)** de cet échantillon.

Le logiciel de l'instrument analyse automatiquement les niveaux de fluorescence dans les réactions des contrôles, des étalons et des échantillons puis calcule les valeurs Ct.

13.4 Analyse qualitative des résultats

La valeur **Ct** du HSV1 du **Contrôle positif** est utilisée pour valider la PCR. L'analyse de PCR est valide lorsque les résultats sont ceux décrits dans le tableau suivant :

Tableau 32

Réaction du contrôle positif Détecteur FAM « HSV1 »	Résultat du test	Amplification/Détection
Ct ≤ 25	POSITIF	CORRECTE

Si le résultat du **Contrôle Positif** est **Ct > 25** ou **Ct Indéterminé** pour le détecteur FAM « HSV1 », la session d'analyse n'est pas valide et doit être répétée en commençant par l'étape de PCR. Ceci peut indiquer un problème pendant le paramétrage de la PCR, la PCR ou l'étape de détection (par ex. distribution incorrecte ou dégradation du Q-PCR Mix ou du contrôle positif, position incorrecte du contrôle positif, paramètres incorrects du cycle thermique), ce qui peut générer des résultats incorrects.

NOTE!

Lorsque le produit est utilisé pour la quantification de l'ADN du HSV1, les réactions des étalons **Q - PCR Standard** sont paramétrées à la place de la réaction du **Contrôle positif**. Dans ce cas, valider l'amplification et la détection en se reportant à la réaction d'amplification de l'étalon **Q - PCR Standard 10⁵ (Ct ≤ 25)**.

La valeur Ct du HSV1 du **Contrôle négatif** est utilisée pour valider la PCR. L'analyse de PCR est valide lorsque les résultats sont ceux décrits dans le tableau suivant :

Tableau 33

Réaction du contrôle négatif Détecteur FAM « HSV1 »	Résultat du test	Amplification/Détection
Ct indéterminé	NÉGATIF	CORRECTE

Si le résultat de la réaction d'amplification du **Contrôle négatif** est différent de **Ct indéterminé** pour le détecteur FAM « HSV1 », la session d'analyse n'est pas valide et doit être répétée en commençant par l'étape de PCR. Ceci peut indiquer que des problèmes sont survenus pendant l'étape d'amplification (contamination), ce qui peut générer des résultats incorrects et des résultats faux positifs.

La valeur **Ct** du HSV1 dans chaque échantillon est utilisée pour détecter l'ADN cible alors que la valeur **Ct** du Contrôle interne est utilisée pour valider l'extraction, la PCR et la détection.

NOTE!

À l'aide du tracé d'amplification (Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle [Résultats > Tracé d'amplification > delta Rn vs Cycle]), vérifier que la valeur **Ct** de chaque échantillon a été déterminée par une augmentation rapide et régulière de la fluorescence, et non par des pics ou une augmentation du signal du bruit de fond (bruit de fond irrégulier ou important).

Les résultats possibles des échantillons (Results > Report [Résultats > Rapport]) sont décrits dans le tableau suivant :

Tableau 34

Réaction de l'échantillon		Adéquation de l'échantillon	Résultat du test de l'échantillon	ADN du HSV1
Détecteur FAM « HSV1 »	Détecteur VIC « IC »			
Ct indéterminé	Ct > 35 ou Ct indéterminé	non adéquat	non valide	-
	Ct ≤ 35	adéquat	valide, négatif	NON DÉTECTÉ
Ct déterminé	Ct > 35 ou Ct indéterminé	adéquat	valide, positif	DÉTECTÉ
	Ct ≤ 35	adéquat	valide, positif	DÉTECTÉ

Un résultat d'échantillon qui est **Ct indéterminé** pour le HSV1 et **Ct > 35** ou **Ct indéterminé** pour le Contrôle interne n'est pas valide et indique un problème pendant l'extraction des acides nucléiques ou la PCR (par ex. dégradation de l'ADN de l'échantillon, perte d'ADN pendant l'extraction, présence d'inhibiteurs dans l'ADN, amplification inefficace ou nulle), ce qui peut générer des résultats incorrects. L'échantillon n'est pas adéquat pour l'analyse et le test doit être répété en commençant par l'extraction des acides nucléiques d'un nouvel échantillon.

Un résultat d'échantillon qui est **Ct indéterminé** pour le HSV1 et **Ct ≤ 35** pour le Contrôle interne est valide et indique que l'ADN du HSV1 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon peut ne pas contenir d'ADN du HSV1 ou il contient de l'ADN du HSV1 à une concentration inférieure à la limite de détection du produit (se reporter à la section [14 Caractéristiques de performance page 42](#)). Un résultat d'échantillon qui est **Ct déterminé (Ct ≤ 45)** pour le HSV1 et **Ct > 35, Ct indéterminé, ou Ct ≤ 35** pour l'IC est valide et indique que l'ADN du HSV1 a été détecté dans l'échantillon.

NOTE!

En cas de résultat Ct déterminé pour le HSV1 et Ct > 35 ou Indéterminé pour l'IC, l'efficacité de la PCR de l'IC peut avoir été impactée par une compétition avec la PCR de l'ADN du HSV1 hautement efficace. Dans ce cas, l'échantillon est adéquat et le résultat positif est valide.

NOTE!

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

13.5 Analyse quantitative des résultats

Dans les réactions d'amplification des quatre **Q - PCR standards**, les valeurs **Ct** du HSV1 sont utilisées pour calculer la **courbe d'étalonnage** (Results > Standard Curve [Résultats > Courbe d'étalonnage]) de la session d'amplification, afin de valider l'amplification et la détection comme indiqué dans le tableau suivant :

Tableau 35

Courbe d'étalonnage Détecteur FAM « HSV1 »	Plage d'acceptabilité	Amplification/Détection
Coefficient de corrélation (R2)	0,990 ≤ R2 ≤ 1,000	CORRECTE

Si la valeur du **coefficient de corrélation (R2)** n'est pas comprise dans les limites, la session d'analyse n'est pas valide et doit être répétée en commençant par l'étape de PCR. Ceci peut indiquer un problème pendant la PCR ou l'étape de détection (par ex. distribution incorrecte ou dégradation du Q-PCR Mix ou des étalons, position incorrecte des étalons, paramètres incorrects du cycle thermique ou contamination croisée), ce qui peut générer des résultats incorrects.

Tableau 36

Résultat de l'échantillon pour le détecteur FAM « HSV1 »	Copies du HSV1 par réaction
Quantité > 1 x 10 ⁶	PLUS DE 1 x 10 ⁶
1 x 10 ¹ ≤ Quantité ≤ 1 x 10 ⁶	= Quantité
Quantité < 1 x 10 ¹	MOINS DE 10

Les résultats (**Quantité**) de chaque échantillon (Results > Report [Résultats > Rapport]) sont utilisés pour calculer les copies du HSV1 présentes dans l'échantillon utilisé dans l'extraction (**Nc**) selon la formule suivante :

Tableau 37

$Nc = \frac{Ve \times \text{Quantité}}{Vc \times Va \times Ep}$

dans laquelle :

Ve est le volume total en μL de l'échantillon d'ADN extrait (volume d'élution)

Quantité est le nombre de **copies/réaction** de l'échantillon calculé par le logiciel de l'instrument (résultat de la PCR)

Vc est le volume de l'échantillon utilisé pour l'extraction des acides nucléiques (volume initial) exprimé dans l'unité de mesure requise

Va est le volume en μL de l'échantillon d'ADN extrait (éluat) utilisé dans la PCR

Ep est l'efficacité de la procédure (extraction et PCR) **exprimée en valeurs décimales** ;

Pour convertir la quantité de l'échantillon, initialement en copies/mL, en UI/mL, multiplier la valeur en copies/mL par le **facteur de conversion (Fc)**. Le Fc a été calculé en utilisant un matériel de référence certifié et étalonné (1^{er} étalon international de l'OMS pour l'ADN du HSV1, NIBSC réf. 16/368). (Se reporter à la section [14 Caractéristiques de performance page 42](#)).

À des fins de commodité, le tableau suivant présente des formules simplifiées dans lesquelles $Ve/(Vc \times Va \times Ep)$ et sa conversion en UI/mL ont été calculées.

Tableau 38

Matrice	Méthode d'extraction des acides nucléiques	$Ve/(Vc \times Va \times Ep)$	Formule de quantification Nc (copies/mL)	Fc (UI/copie)	Formule de quantification Nc (UI/mL)
Sang total	ELITe GALAXY	35	35 x Quantité	0,2	7 x Quantité

14 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC L'INSTRUMENT ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument

14.1 Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du test en association avec du sang total prélevé sur EDTA a été vérifiée sur les instruments ELITe GALAXY et ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument en testant un panel de matrices négatives pour le HSV1 dopées avec un matériel de référence certifié (« QCMD 2008 Herpes Simplex Virus EQA Panel », Qnostics, Ltd). Une analyse de régression des probits a été réalisée sur les résultats, et la LoD a été estimée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 %.

Tableau 39 Limite de détection avec le ELITe GALAXY (UI/mL)

Matrice	Positivité de 95 %	Intervalle de confiance à 95 %	
		limite inférieure	limite supérieure
sang total	42	27	100

La LoD, exprimée en copies/mL pour chaque matrice, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué au paragraphe [14.6 Conversion en unités internationales page 44](#).

La sensibilité analytique, en copies/mL, est indiquée ci-dessous.

Tableau 40 Limite de détection avec le ELITe GALAXY (copies/mL)

Matrice	Positivité de 95 %	Intervalle de confiance à 95 %	
		limite inférieure	limite supérieure
sang total	211	135	498

14.2 Plage de mesure linéaire

La plage de mesure linéaire du test a été déterminée en association avec du sang total sur les instruments **ELITe GALAXY** et **ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument** en utilisant un panel de dilutions d'un ADN plasmidique contenant le produit d'amplification.

La plage de mesure linéaire, exprimée en copies/mL, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué au paragraphe [14.6 Conversion en unités internationales page 44](#).

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 41 Plage de mesure linéaire pour les échantillons de sang total

Unité de mesure	limite inférieure	limite supérieure
UI/mL	2	200 000
copies/réaction	10	1 000 000

14.3 Inclusivité : efficacité de détection et de quantification de différents génotypes

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

14.4 Organismes potentiellement interférents : réactivité croisée

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

14.5 Reproductibilité

La reproductibilité du test a été évaluée sur l'instrument ABI 7500 par l'analyse d'un panel d'échantillons dopés avec un ADN plasmidique contenant le produit d'amplification HSV1 et un échantillon négatif.

Un résumé de la reproductibilité inter-lots (sur dix lots) est présenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau 42 Reproductibilité inter-lots avec l'instrument ABI 7500

Échantillon	HSV1				
	N	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
100 000 cible	30	22,84	0,35	1,53	100 %
50 000 cible + 150 000 IC	30	23,63	0,34	1,45	100 %
5 000 cible + 150 000 IC	30	26,68	0,46	1,71	100 %
500 cible + 150 000 IC	30	30,08	0,52	1,72	100 %
10 cible + 150 000 IC	90	36,04	0,81	2,26	100 %
150 000 IC	30	22,44	0,35	1,58	100 %
6 000 IC	90	27,85	0,38	1,36	100 %

Dans le test de reproductibilité, le HSV1 ELITE MGB Kit a détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 5 %.

14.6 Conversion en unités internationales

Le facteur de conversion pour indiquer les résultats quantitatifs en unités internationales/mL à partir d'une valeur en copies/mL, calculé pour les instruments ELITE GALAXY et ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument sur des échantillons de sang total prélevé sur EDTA, a été confirmé en utilisant le matériel de référence certifié et étalonné « 1^{er} étalon international de l'OMS pour l'ADN du HSV1 » (NIBSC, réf. 16/368, Royaume-Uni).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 43 Facteur de conversion en unités internationales

Instrument	Fc (UI/copies)
ELITE GALAXY	0,2

14.7 Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée, en association avec les instruments ELITE GALAXY et ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument, en analysant des échantillons certifiés négatifs ou présumés négatifs pour l'ADN du HSV1.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 44 Spécificité diagnostique

Échantillons	N	positif	négatif	Spécificité diagnostique (%)
Sang total prélevé sur EDTA négatif pour l'ADN du HSV1	57	0	57	100

14.8 Sensibilité diagnostique : confirmation des échantillons positifs

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée, en association avec les instruments **ELITE GALAXY** et ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument, en analysant des échantillons dopés avec un matériel de référence du HSV1.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 45

Échantillons	N	positif	négatif	Sensibilité diagnostique (%)
Sang total prélevé sur EDTA dopé avec le HSV1	54	54	0	100

NOTE!

Les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et les instruments sont présentés dans la Fiche technique du produit « HSV1 ELITE MGB Kit », FTP 031PLD.

15 BIBLIOGRAPHIE

E. Aurelius et al. (1993) *J. Med. Virology* **39**: 179 - 186

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

16 LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser ce produit uniquement avec les échantillons cliniques suivants : sang total prélevé sur EDTA (tous les instruments), plasma prélevé sur EDTA et LCR (ELITe InGenius et ELITe BeGenius).

Ne pas utiliser d'ADN extrait d'échantillons héparinés avec ce produit : l'héparine inhibe la réaction d'amplification des acides nucléiques et génère des résultats non valides.

Ne pas utiliser d'ADN extrait contaminé par de l'hémoglobine, du dextrane, du Ficoll®, de l'éthanol ou du 2-propanol avec ce produit : ces substances inhibent la réaction d'amplification des acides nucléiques et peuvent générer des résultats non valides.

Ne pas utiliser ce produit avec de l'ADN extrait contenant une grande quantité d'ADN génomique humain, qui risque d'inhiber la réaction d'amplification des acides nucléiques.

Il n'existe aucune donnée disponible en ce qui concerne l'inhibition provoquée par des médicaments antiviraux, antibiotiques, de chimiothérapie ou immunosuppresseurs.

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

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

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

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

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

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

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

Un résultat négatif obtenu avec ce produit indique que l'ADN cible n'est pas détecté dans l'ADN extrait de l'échantillon ; toutefois, il n'est pas possible d'exclure le fait que de l'ADN cible soit présent à un titre inférieur à la limite de détection du produit (se reporter à la section [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC LES ELITe InGenius et ELITe BeGenius page 25](#)). Dans ce cas, le résultat pourrait être un faux négatif.

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

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

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

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

17 PROBLÈMES ET SOLUTIONS

ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Tableau 46

Réaction du Q-PCR Standard, courbe d'étalonnage ou réaction du Contrôle positif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du Q-PCR Mix, des étalons Q-PCR Standards et du Contrôle Positif. Vérifier les volumes du Q-PCR Mix, des étalons Q-PCR Standards et du Contrôle Positif.
Dégradation du PCR Mix.	Ne pas utiliser le Q-PCR Mix pendant plus de 5 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de Stockage]) ou dans la Cooler Unit). Ne pas utiliser le Q-PCR Mix pendant plus de 3 sessions d'analyse consécutives (7 heures dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de Stockage]) ou dans la Cooler Unit). Ne pas laisser le Q-PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Utiliser une nouvelle aliquote du Q-PCR Mix.
Dégradation des étalons Q-PCR Standards ou du Contrôle positif.	Ne pas utiliser le Q-PCR Standard pendant plus de 4 sessions d'analyse indépendantes (de 2 heures chacune dans la « Extraction Area » [Zone d'extraction] ou dans la Cooler Unit). Ne pas utiliser le Contrôle positif pendant plus de 4 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans la « Extraction Area » [Zone d'extraction] ou dans la Cooler Unit). Utiliser de nouvelles aliquotes des étalons Q-PCR Standards ou du Contrôle positif.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 47

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

Tableau 48

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du Q-PCR Mix, du Contrôle interne et de l'échantillon. Vérifier les volumes du Q-PCR Mix, du Contrôle interne et de l'échantillon.
Dégradation du PCR Mix.	Ne pas utiliser le Q-PCR Mix pendant plus de 5 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de Stockage]) ou dans la Cooler Unit). Ne pas utiliser le Q-PCR Mix pendant plus de 3 sessions d'analyse consécutives (7 heures dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de Stockage]) ou dans la Cooler Unit). Ne pas laisser le Q-PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Utiliser une nouvelle aliquote du Q-PCR Mix.
Dégradation de la matrice du Contrôle interne.	Utiliser une nouvelle aliquote du Contrôle Interne
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification de l'échantillon élué avec une dilution à 1:2 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). Répéter l'extraction de l'échantillon avec une dilution à 1:2 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 49

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

Tableau 50

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

Tableau 51

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

Plateforme ouverte**Tableau 52**

Réaction du Q-PCR Standard, courbe d'étalonnage ou réaction du Contrôle positif non valide	
Causes possibles	Solutions
Distribution incorrecte dans les puits de la microplaque.	Vérifier les volumes du PCR Mix, des étalons Q-PCR Standards et du Contrôle Positif distribués dans la microplaque de Q-PCR.
Dégradation du Q-PCR Mix.	<p>Ne pas congeler et décongeler le PCR Mix plus de 5 fois.</p> <p>Ne pas laisser le Q-PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes.</p> <p>Utiliser une nouvelle aliquote du Q-PCR Mix.</p>
Dégradation des étalons Q-PCR Standards ou du Contrôle positif.	<p>Ne pas congeler et décongeler l'étalon Q-PCR Standard plus de 4 fois.</p> <p>Utiliser de nouvelles aliquotes des étalons Q-PCR Standards ou du Contrôle positif.</p>
Erreur de paramétrage de l'instrument.	<p>Vérifier la position du PCR Mix, des étalons Q-PCR Standards et du Contrôle positif sur l'instrument.</p> <p>Vérifier le paramétrage du cycle thermique sur l'instrument.</p>

Tableau 53

Réaction du Contrôle négatif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du Q-PCR Mix et du Contrôle négatif. Vérifier les volumes du Q-PCR Mix et du Contrôle négatif.
Microplaque mal scellée.	Prendre des précautions lors du scellage de la microplaque de Q-PCR avec le film adhésif optique.
Contamination du Contrôle négatif.	Ne pas utiliser le Contrôle négatif pour plus d'une (1) session d'analyse. Utiliser une nouvelle aliquote d'eau de qualité biologie moléculaire.

Tableau 53 (continued)

Réaction du Contrôle négatif non valide	
Causes possibles	Solutions
Contamination du PCR Mix.	Utiliser une nouvelle aliquote du Q-PCR Mix.
Contamination de la zone de préparation, des racks et de la micropipette.	Nettoyer les surfaces et les instruments avec des détergents aqueux, laver les blouses de laboratoire, remplacer les tubes à essai et les cônes utilisés.

Tableau 54

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du Q-PCR Mix, du Contrôle interne et de l'échantillon. Vérifier les volumes du Q-PCR Mix, du Contrôle interne et de l'échantillon.
Dégradation du PCR Mix.	Ne pas congeler et décongeler le PCR Mix plus de cinq fois. Ne pas laisser le Q-PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Utiliser une nouvelle aliquote du Q-PCR Mix.
Dégradation de la matrice du Contrôle interne.	Utiliser une nouvelle aliquote du Contrôle interne
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification de l'échantillon élué avec une dilution à 1:2 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire. Répéter l'extraction de l'échantillon avec une dilution à 1:2 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire.













Tableau 55

Fluorescence de bruit de fond irrégulière ou élevée dans les réactions	
Causes possibles	Solutions
Distribution incorrecte de l'échantillon.	Vérifier les volumes des réactifs et des échantillons distribués dans la microplaque de Q-PCR.
Erreur de paramétrage de la référence.	Si la plage de calcul pour la référence définie du cycle 6 au cycle 15 n'est pas appropriée pour normaliser le bruit de fond, définir la plage de calcul dans les cycles où la fluorescence de bruit de fond s'est déjà stabilisée (vérifier Results > Component [Résultats > Composant]) et la fluorescence cible n'a pas encore commencé à augmenter.

Tableau 56

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

18 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 du Règlement IVDR 2017/746/CE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> . Certification délivrée par TÜV SÜD Product Service GmbH, Allemagne.
	Identifiant unique de dispositif
	Contenu suffisant pour << N >> tests.
	Consulter le mode d'emploi.
	Contenu.
	Tenir à l'abri de la lumière du soleil.
	Fabricant.

19 AVIS AUX UTILISATEURS

Tout incident grave lié au dispositif doit être signalé au fabricant ainsi qu'à l'autorité compétente de l'état membre dans lequel réside l'utilisateur et/ou le patient. Pour informer le fabricant de ce dispositif, ELITechGroup S. p. A., utiliser l'adresse e-mail suivante : egspa.vigilance@elitechgroup.com.

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

20 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

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

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

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

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

Appendix A HSV1 ELITE MGB Kit utilisé en association avec les plateformes Genius series®



ATTENTION

Ce document est une version simplifiée du mode d'emploi officiel. Veuillez vous reporter au document complet avant toute utilisation : www.elitechgroup.com

Application

Le produit **HSV1 ELITE MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test quantitatif de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la **détection et la quantification de l'ADN du virus herpès simplex de type 1 (HSV1)** extrait d'échantillons cliniques.

Le test est validé en association avec les instruments **ELITE InGenius®** et **ELITE BeGenius®**, des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, de PCR en temps réel et d'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons humains de liquide céphalorachidien (LCR), de sang total prélevé sur EDTA et de plasma prélevé sur EDTA.

Le test est également validé en association avec l'instrument **ELITE GALAXY**, un système automatisé d'extraction et de paramétrage de PCR, et la plateforme de PCR en temps réel **ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**, en utilisant des échantillons humains de sang total prélevé sur EDTA.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic et à la surveillance des infections par le HSV1 chez les patients suspectés de présenter une infection ou surveillés pour une infection par le HSV1.

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


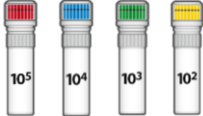

Séquence amplifiée

Séquence	Gène	Fluorophore	Canal
Cible	Glycoprotéine D (gpD)	FAM	HSV1
Contrôle interne	Gène de la bêta-globine humaine	AP525	IC

Matrice validée

- Sang total prélevé sur EDTA
- Plasma prélevé sur EDTA
- LCR

Contenu du kit et produits associés

HSV1 ELITE MGB Kit	HSV1 ELITE Standard	HSV1 - ELITE Positive Control
 X 4	 X 2	 X 2
PCR Mix prêt à l'emploi 4 tubes de 540 µL 96 réactions par kit 5 cycles de congélation/ décongélation	4 niveaux prêts à l'emploi : 10 ⁵ copies/réaction, 10 ⁴ copies/réaction, 10 ³ copies/réaction, 10 ² copies/réaction. 2 jeux de 4 tubes de 200 µL 4 cycles de congélation/décongélation	CP prêt à l'emploi : 2 tubes de 160 µL 8 réactions par kit 4 cycles de congélation/ décongélation

Durée de conservation maximale : **24 mois**Température de stockage : **-20 °C**

Autres produits requis non inclus dans le kit

<ul style="list-style-type: none"> Instrument ELITE InGenius : INT030. Instrument ELITE BeGenius : INT040. ELITE InGenius SP 200 : INT032SP200. 	<ul style="list-style-type: none"> CPE – Internal Control : CTCRCPE Consommables pour ELITE InGenius et ELITE BeGenius (voir le mode d'emploi des instruments ELITE InGenius et ELITE BeGenius)
--	---

Protocole avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius

› Volume d'échantillon	200 µL	› Input volume (volume initial) de PCR	20 µL
› Volume de CPE	10 µL	› Volume de Q-PCR Mix	20 µL
› Volume d'élution total	100 µL	› Fréquence des contrôles	15 jours

Performances de ELITE InGenius et ELITE BeGenius

Matrice	Limite de détection		Sensibilité diagnostique	Spécificité diagnostique
	UI/mL	copies/mL		
sang total	46	230	100 %	100 %
plasma	25	250	100 %	100 %
LCR	25	250	100 %	100 %

Préparation de l'échantillon

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

Type d'échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Sang total	EDTA	≤ 1 j	≤ 3 j	≤ 30 j	≤ 30 j
Plasma	EDTA	≤ 1 j	≤ 3 j	≤ 30 j	≤ 30 j
LCR	-	≤ 4 heures	≤ 4 heures	≤ 30 j	≤ 30 j

EDTA, acide éthylènediaminetétraacétique ; j, jour.

Procédures ELITe InGenius

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

Avant l'analyse

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

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

<p>1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile</p>	<p>2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », élution : « 100 µL »</p>	<p>3. Scanner les codes-barres des échantillons à l'aide du lecteur de codes-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon</p>
<p>4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : HSV1 ELITe_WB_200_100 ou HSV1 ELITe_PL_200_100 ou HSV1 ELITe_CSF_200_100</p>	<p>5. Sélectionner la méthode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) et la position de l'échantillon : Tube primaire ou Tube d'extraction</p>	<p>6. Charger le PCR Mix et le Contrôle interne dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)</p>
<p>7. Charger : la PCR Cassette (Cassette de PCR), la cartouche d'extraction, le tube d'élution, la cassette à embouts, les racks de tubes d'extraction et les compartiments des échantillons primaires</p>	<p>8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle</p>	<p>9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats</p>

NOTE!

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile	2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », élution : « 100 µL »	3. Scanner les codes-barres des échantillons à l'aide du lecteur de codes-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : HSV1 ELITe_PC et HSV1 ELITe_NC, ou HSV1 ELITe_STD ou HSV1 ELITe_WB_200_100 ou HSV1 ELITe_PL_200_100 ou HSV1 ELITe_CSF_200_100.	5. Sélectionner la méthode « PCR Only » (PCR seulement) et la position de l'échantillon « Elution Tube » (Tube d'élution)	6. Charger le PCR Mix dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7. Charger : le rack de PCR Cassette (Cassette de PCR) et le rack de tubes d'élution avec l'acide nucléique extrait	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

Procédures ELITe BeGenius

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

Avant l'analyse

1. Mettre le ELITe BeGenius en marche. Se connecter avec le nom d'utilisateur et le mot de passe. Sélectionner le mode « Closed » (Fermé).	2. Vérifier les calibrateurs : Q-PCR Standard dans le menu « Calibration » (Étalonnage). Vérifier les contrôles : Positive Control et Negative Control dans le menu « Controls » (Contrôles). Remarque : tous les contrôles doivent avoir été analysés, approuvés et ne pas être expirés.	3. Décongeler les tubes de PCR Mix et de CTRCPE . Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s.
--	--	---

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile puis cliquer sur le mode d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR)	2. Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) avec les échantillons à code-barres dans la Cooler Unit. La lecture des code-barres est déjà active	3. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », Éluat : « 100 µL »
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt HSV1 ELITe_Be_WB_200_100 ou HSV1 ELITe_Be_PL_200_100 ou HSV1 ELITe_Be_CSF_200_100 Remarque : si une deuxième extraction est exécutée, répéter les étapes 2 à 4	5. Imprimer les étiquettes à code-barres pour les apposer sur les tubes d'élution vides. Charger les tubes dans le « Elution Rack » (Rack d'élution) et insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	6. Charger le PCR Mix et le Contrôle interne dans le Reagent/Elution Rack (Rack de réactifs/d'élution), puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.
7. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) et le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITe InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

NOTE!

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

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

<p>1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile, puis cliquer sur le mode d'analyse « PCR Only » (PCR seulement).</p>	<p>2. Charger les tubes à code-barres contenant les acides nucléiques extraits ou les contrôles dans le « Elution Rack » (Rack d'élution), puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.</p>	<p>3. Pour les Contrôles : pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions). Pour les éluats : pour chaque « Position », saisir le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (Volume d'éluat extrait).</p>
<p>4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : HSV1 ELITe_Be_PC et HSV1 ELITe_Be_NC, ou HSV1 ELITe_Be_STD ou HSV1 ELITe_Be_WB_200_100 ou HSV1 ELITe_Be_PL_200_100 ou HSV1 ELITe_Be_CSF_200_100</p>	<p>5. Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.</p>	<p>6. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR).</p>
<p>7. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle.</p>	<p>8. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats.</p>	

Appendix B HSV1 ELITE MGB Kit utilisé en association avec l'instrument ABI 7500



ATTENTION

Ce document est une version simplifiée du mode d'emploi officiel. Veuillez vous reporter au document complet avant toute utilisation : www.elitechgroup.com

Application

Le produit **HSV1 ELITE MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test quantitatif de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la **détection et la quantification de l'ADN du virus herpès simplex de type 1 (HSV1)** extrait d'échantillons cliniques.

Le test est validé en association avec les instruments **ELITE InGenius®** et **ELITE BeGenius®**, des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, de PCR en temps réel et d'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons humains de liquide céphalorachidien (LCR), de sang total prélevé sur EDTA et de plasma prélevé sur EDTA.

Le test est également validé en association avec l'instrument **ELITE GALAXY**, un système automatisé d'extraction et de paramétrage de PCR, et la plateforme de PCR en temps réel **ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument**, en utilisant des échantillons humains de sang total prélevé sur EDTA.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic et à la surveillance des infections par le HSV1 chez les patients suspectés de présenter une infection ou surveillés pour une infection par le HSV1.

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


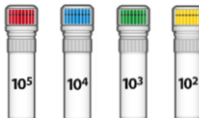

Séquence amplifiée

Séquence	Gène	Fluorophore	Canal
Cible	Glycoprotéine D (gpD)	FAM	HSV1
Contrôle interne	Gène de la bêta-globine humaine	AP525	IC

Matrice validée

- Sang total prélevé sur EDTA

Contenu du kit et produits associés

HSV1 ELITE MGB Kit	HSV1 ELITE Standard	HSV1 - ELITE Positive Control
 X 4	 X 2	 X 2
PCR Mix prêt à l'emploi 4 tubes de 540 µL 96 réactions par kit 5 cycles de congélation/décongélation	4 niveaux prêts à l'emploi : 10 ⁵ copies/réaction, 10 ⁴ copies/réaction, 10 ³ copies/réaction, 10 ² copies/réaction. 2 jeux de 4 tubes de 200 µL 8 cycles de congélation/décongélation	CP prêt à l'emploi : 2 tubes de 160 µL 8 réactions par kit 8 cycles de congélation/décongélation

Durée de conservation maximale : **24 mois**

Température de stockage : **-20 °C**

Autres produits requis non inclus dans le kit

<ul style="list-style-type: none"> • ELITe GALAXY : INT020 • ELITe GALAXY 300 extraction kit : INT021EX • ABI 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument 	<ul style="list-style-type: none"> • CPE – Internal Control : CTCPE • Eau de qualité biologie moléculaire
--	---

Performances avec l'instrument 7500 Real-Time PCR Instrument

Matrice	Limite de détection	Spécificité diagnostique	Sensibilité diagnostique	Linéarité (UI/mL)	Formule de quantification (copies/mL)	Facteur de conversion copies/mL en UI/mL
sang total	42,2 UI/mL	100 %	100 %	2,0 - 2,0 x 10 ⁵	35 x Quantité	0,2

Procédures avec l'instrument 7500 Real-Time PCR Instrument

La procédure ci-dessous résume les principales étapes de l'analyse des échantillons avec le flux de travail de PCR conventionnel : systèmes d'extraction validés, paramètres de l'instrument de PCR, paramétrage de la PCR et interprétation des résultats.

Extraction - Systèmes validés

Extraction	Matrice validée	Volume d'échantillon traité	Volume minimum d'échantillon	Volume d'éluat total	Volume du Contrôle interne CPE
ELITe Galaxy	Sang total	300 µL	400 µL	200 µL	10 µL

Amplification - Paramètres de l'instrument 7500 Fast Dx

1. Mettre le thermocycleur en marche
2. Paramétrer le détecteur « HSV1 » avec « FAM » et le désactivateur avec « none » (aucun)
3. Paramétrer le détecteur « Internal Control » (Contrôle interne) avec « VIC » et le désactivateur avec « none » (aucun)
4. Paramétrer la fluorescence passive en tant que « Cy5 »
5. Paramétrer le profil thermique comme indiqué. L'acquisition de la fluorescence doit être paramétrée lors de l'étape d'hybridation à 60 °C

Étape	Température	Temps
Décontamination	50 °C	2 min
Dénaturation initiale	94 °C	2 min
Amplification Détection 45 cycles	94 °C	10 s
	60 °C	30 s
	72 °C	20 s

L'analyse de la courbe de fusion est facultative ; se reporter au mode d'emploi complet

Amplification - Paramétrage de la PCR (effectué par l'instrument ELITe GALAXY)

Pour procéder au paramétrage de la session d'analyse de PCR :

1. décongeler les tubes de Q-PCR Mix et de Contrôle positif/Q-PCR standard

2. mélanger délicatement et centrifuger
3. Préparer le **Contrôle négatif** (non fourni)
4. préparer une **microplaque de Q-PCR**
5. l'instrument effectue automatiquement le paramétrage de la PCR en distribuant, dans chaque puits de la **microplaque de Q-PCR** : **20 µL de PCR Mix** et **20 µL d'ADN extrait/Q-PCR Standard/Contrôles**

Une fois le paramétrage de la PCR effectué par l'instrument :

1. sceller la **microplaque de Q-PCR** avec un film adhésif optique
2. transférer la **microplaque de Q-PCR** sur l'instrument **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument** et lancer la PCR. Enregistrer le fichier d'analyse avec un nom unique et reconnaissable (p. ex., « année-mois-jour-CIBLE-EGSpA »).

Amplification - Seuil pour l'analyse quantitative

Instrument	HSV1 FAM	Contrôle interne VIC
7500 Fast Dx Real Time PCR	0,2	0,1

Interprétation

Résultats qualitatifs		
Valeur Ct HSV1	Valeur Ct Contrôle interne	Interprétation
Déterminé	—	Positif
Indéterminé	Ct ≤ 35	Négatif
	Ct > 35 ou Indéterminé	Non valide*

**Répéter le test en commençant par l'extraction*

Résultats quantitatifs
La valeur Ct du HSV1 obtenue pour chaque échantillon et la courbe d'étalonnage générée sont utilisées pour calculer la quantité d'ADN cible dans la réaction.
La quantification de l'échantillon est comprise entre environ 10 et 10 ⁶ copies/réaction.

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

