



NOTICE of CHANGE dated 01/08/2025

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HBV ELITe MGB® Kit» Ref. RTK602ING

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

- Replacement of 2mL tube 953-217 and white cap 953-223 with 2mL tube 953-065 related to PCR Mix component tubes.

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

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

PRODUCT REF.	Lot Number	Expiry date
RTK602ING	C1224-002	31/10/2026
RTK602ING	C0225-002	31/12/2026



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

Bureaux : Tél. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76

11

E-mail : emd.support@elitechgroup.com

HBV ELITe MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING



UDI 08033891487027

0123

TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	page 1
PRINCIPE DU TEST	page 2
DESCRIPTION DU PRODUIT	page 2
MATÉRIEL FOURNI	page 3
MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	page 3
AUTRES PRODUITS REQUIS	page 4
AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	page 5
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	page 6
PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius	page 8
PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius	page 14
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	page 18
BIBLIOGRAPHIE	page 30
LIMITES DE LA PROCÉDURE	page 31
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	page 32
LÉGENDE DES SYMBOLES	page 35
AVIS AUX UTILISATEURS	page 36
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	page 36
ANNEXE : GUIDE DE DÉMARRAGE RAPIDE	page A

APPLICATION

Le produit **HBV 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 de l'hépatite B (VHB) 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 plasma prélevé sur EDTA ou ACD et de sérum.

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

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

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

PRINCIPE DU TEST

Le test est une PCR quantitative en temps réel qui détecte l'ADN du VHB isolé à partir d'échantillons et amplifié à l'aide du réactif du test, le **HBV 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. Les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** surveillent l'augmentation de la fluorescence et calculent les cycles seuils (Ct) ainsi que les températures de fusion (Tm). La quantité de VHB est calculée en se basant sur une courbe d'étalonnage enregistrée.

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

DESCRIPTION DU PRODUIT

Le **HBV ELITE MGB Kit** fournit les composants suivants :

- **HBV ELITE MGB Mix**

Ce composant fournit le sous-composant **HBV PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amorces et la sonde spécifiques pour :

- le gène de la polymérase (gène P) du **VHB**, détecté dans le Canal **HBV** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB®, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée par le colorant FAM.
- le Contrôle interne (**IC**), spécifique pour la séquence artificielle IC2, détecté dans le Canal **IC** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor® AP525.
- Le **HBV PCR Mix** contient également un tampon, du chlorure de magnésium, des nucléotides triphosphates et l'enzyme ADN polymérase avec activation thermique (Hot start). Chaque tube contient **280 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **12 tests** (en cas de traitement d'au moins 2 échantillons par session d'analyse).

Le **HBV ELITE MGB Mix** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **96 tests sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius (12 tests avec chaque tube)**, en utilisant 20 µL par réaction.

- **HBV ELITE Standard**

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

La concentration de l'ADN plasmidique a été déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre UV (copies/mL), qui a été corrélée au « 4^e étalon international de l'OMS pour les TAN de l'ADN du VHB » (NIBSC, Royaume-Uni, code 10/266) par un facteur de conversion permettant de quantifier le VHB en unité internationale/mL (UI/mL).

La concentration de l'ADN plasmidique a également été corrélée au « 5^e étalon international de l'OMS pour les TAN de l'ADN du VHB » (NIBSC, Royaume-Uni, code 22/120) conformément au facteur de conversion en unités internationales, comme indiqué à la section « Caractéristiques de performance ».

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

- **HBV – ELITE Positive Control**

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

HBV ELITE MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING

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

- **HBV Internal Control**

Ce composant contient le sous-composant **HBV CPE** (Contrôle interne exogène), une solution stabilisée d'ADN plasmidique contenant la séquence artificielle IC2. Le **HBV CPE** est ajouté aux réactifs d'extraction afin de valider les résultats des échantillons négatifs pour le VHB.

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

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

MATÉRIEL FOURNI

Composant	Sous-composant	Description	Quantité	Classification des risques
HBV ELITE MGB Mix réf. RTS602ING	HBV PCR Mix réf. RTS602ING	Mélange de réactifs pour la PCR en temps réel avec un capuchon NATUREL	8 x 280 µL	-
HBV ELITE Standard réf. STD602ING	HBV Q-PCR Standard 10 ⁵ réf. STD602ING-5	solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon ROUGE	1 x 160 µL	-
	HBV Q-PCR Standard 10 ⁴ réf. STD602ING-4	solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon BLEU	1 x 160 µL	
	HBV Q-PCR Standard 10 ³ réf. STD602ING-3	solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon VERT	1 x 160 µL	
	HBV Q-PCR Standard 10 ² réf. STD602ING-2	solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon JAUNE	1 x 160 µL	
HBV - ELITE Positive Control réf. CTR602ING	HBV Positive Control réf. CTR602ING	Solution plasmidique dans un tube doté d'un capuchon NOIR	2 x 160 µL	-
HBV Internal Control réf. CPE602ING	HBV CPE réf. CPE602ING	Solution d'ADN plasmidiques et d'ARN génomique du phage MS2 avec un capuchon NATUREL	8 x 160 µL	-

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

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

HBV ELITE MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING

AUTRES PRODUITS REQUIS

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

Instruments et logiciels	Produits et réactifs
ELITE InGenius (EG SpA, réf. INT030) ELITE InGenius Software version 1.3.0.17 (ou versions ultérieures) HBV ELITE_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif HBV ELITE_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif HBV ELITE_STD , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs HBV ELITE_PL_200_50 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma HBV ELITE_Se_200_50 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sérum	ELITE InGenius SP 200 (EG SpA, réf. INT032SP200) ELITE InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, réf. INT032CS) ELITE InGenius PCR Cassette (EG SpA, réf. INT035PCR) 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., réf. TF-350-L-R-S), avec le ELITE InGenius uniquement 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Suisse, réf. 30180118), avec le ELITE BeGenius uniquement ELITE InGenius Waste Box (EG SpA, réf. F2102-000)
ELITE BeGenius (EG SpA, réf. INT040) ELITE BeGenius Software version 2.1.0 (ou versions ultérieures) HBV ELITE_Be_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif HBV ELITE_Be_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif HBV ELITE_Be_STD , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs HBV ELITE_Be_PL_200_50 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma HBV ELITE_Be_Se_200_50 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sérum	

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

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

Avertissements et précautions d'ordre général

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

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

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

Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.

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

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

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

Lire attentivement toutes les instructions indiquées avant d'exécuter le test.

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

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

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

Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.

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

Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

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

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

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

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

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

Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Composant (Sous-composant)	Température de stockage	Utilisation après la première ouverture	Cycles de congélation/d écongélation	Stabilité à bord de l'instrument (ELITe InGenius et ELITe BeGenius)
HBV ELITe MGB Mix (HBV PCR Mix)	-20 °C ou température plus basse (à l'abri de la lumière)	60 jours	jusqu'à sept	jusqu'à 7 sessions d'analyse distinctes* de 3 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)
HBV ELITe Standard (HBV Q-PCR Standard)	-20 °C ou température plus basse	60 jours	jusqu'à deux	2 sessions d'analyse distinctes de 2 heures chacune
HBV ELITe – Positive Control (HBV Positive Control)	-20 °C ou température plus basse	60 jours	jusqu'à quatre	4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune
HBV ELITe Internal Control (HBV CPE)	-20 °C ou température plus basse	60 jours	jusqu'à six	6 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune

* avec des cycles de congélation/décongélation intermédiaires

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

Ce produit est destiné à être utilisé sur le **ELITe InGenius** et le **ELITe BeGenius** avec les échantillons cliniques suivants, identifiés et manipulés selon les directives du 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
Plasma	EDTA ou ACD	≤ 3 jours	≤ 5 jours	≤ 1 mois	≤ 6 mois
Sérum	-	≤ 3 jours	≤ 5 jours	≤ 1 mois	≤ 6 mois

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

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

HBV ELITe MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING

Protocoles de test pour le HBV ELITe MGB Kit

Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
Plasma ACD ou EDTA	ELITe InGenius	HBV ELITe_PL_200_50	Positif/copie s/mL/Ui/mL/ Négatif	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITe BeGenius	HBV ELITe_Be_PL_200_50	Positif/copie s/mL/Ui/mL/ Négatif	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
Sérum	ELITe InGenius	HBV ELITe_Se_200_50	Positif/copie s/mL/Ui/mL/ Négatif	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITe BeGenius	HBV ELITe_Be_Se_200_50	Positif/copie s/mL/Ui/mL/ Négatif	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL

Pour tous les protocoles, 200 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube d'extraction (pour le ELITe InGenius) ou un tube de 2 mL (pour le ELITe BeGenius).

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

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

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

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

Calibrateurs et contrôles de la PCR

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

- Pour la courbe d'étalonnage, utiliser les quatre niveaux du produit **HBV ELITe Standard** (inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **HBV ELITe_STD** ou **HBV ELITe_Be_STD**.

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

- Pour le Contrôle positif, utiliser le produit **HBV – ELITe Positive Control** (inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **HBV ELITe_PC** ou **HBV 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) **HBV ELITe_NC** ou **HBV ELITe_Be_NC**.

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

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

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

Contrôles de qualité

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

PROCÉDURE AVEC LE ELITE InGenius

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

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

ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

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

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

ÉTAPE 2 - Paramétrage de la session d'analyse

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

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

HBV ELITE MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING

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

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

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

Avant de paramétrer une analyse :

Décongeler les tubes de **HBV PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer 12 tests dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

Remarque : 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.</p> <p>Pour ce test, 200 µL d'échantillon doivent être transférés 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.</p>	<p>Décongeler le tube d'éluion contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver le tube sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.</p>
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 50 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 50 µL.
4	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
5	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
6	Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).
7	Sélectionner la position de chargement de l'échantillon en tant que « Extraction Tube » (Tube d'extraction) dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons). Vérifier que le « Dilution factor » (Facteur de dilution) est « 1 ».	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.

HBV ELITe MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
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'élution 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'élution) 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'élution de l'extraction) est de 50 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.
4	Pour le Q-PCR Standard, attribuer la « Track » (Position), sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles ») et saisir le numéro de lot et la date de péremption du réactif.	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »). Saisir le numéro de lot et la date de péremption du Contrôle positif et de l'eau de qualité biologie moléculaire.
5	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).
6	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'élution [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'élution [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 les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes de Q-PCR Standard.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR), le Contrôle positif et le Contrôle négatif.
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
14	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

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

Remarque : à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le **Elution tube** (Tube d'élution) doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 °C ou à une température plus basse pendant un mois maximum. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

Remarque : 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 (pour 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu du tube pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

Remarque : à la fin de l'analyse, les étalons **Q – PCR Standard** restants peuvent être retirés de

l'instrument, bouchés et conservés à -20 °C ou à une température plus basse. Éviter de renverser les étalons **Q - PCR Standard**.

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

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

ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

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

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

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

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

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

A. Validation de la courbe d'étalonnage

Le **ELITE InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible des réactions des calibrateurs avec les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) **HBV 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**.

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

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

Le **ELITE InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible des réactions du Contrôle positif et du Contrôle négatif avec les paramètres des protocoles de test (Assay Protocols) **HBV ELITE_PC** et **HBV 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.

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

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

C. Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELITE InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible (canal **HBV**) et le Contrôle interne (Internal Control) (canal **IC**) avec les paramètres de protocole de test (Assay Protocol) **HBV ELITE_PL_200_50** et **HBV ELITE_Se_200_50**. Les valeurs Ct des cibles résultantes sont converties en concentration.

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

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

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

Les résultats des échantillons sont automatiquement interprétés par le **ELITE InGenius Software** en utilisant les paramètres du protocole de test (Assay Protocol). Les messages des résultats possibles d'un échantillon sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

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

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

Échantillons rapportés comme « Invalid-Retest Sample » (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon) : dans ce cas, l'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) (voir la section « Problèmes et solutions »).

Les échantillons rapportés comme « HBV:DNA Not detected or below "LoD" copies/mL or IU/mL » (VHB : ADN non détecté ou inférieur à « LoD » copies/mL ou UI/mL) sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter l'ADN du VHB. Dans ce cas, l'échantillon peut être négatif pour l'ADN du

VHB ou l'ADN du VHB est présent à une concentration inférieure à la limite de détection du test (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

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

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

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

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

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

D. Rapport des résultats de l'échantillon

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

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

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

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

PROCÉDURE AVEC LE ELITE BeGenius

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

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

ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre le **ELITE BeGenius** en marche et se connecter en mode « **CLOSED** » (FERMÉ),
- dans le menu « Calibration » (Étalonnage) de la page Home (Accueil), vérifier que les calibrateurs (**HBV Q-PCR Standard**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **HBV PCR Mix** à

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

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

ÉTAPE 2 - Paramétrage de la session d'analyse

Le **HBV ELITe MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITe BeGenius** pour les opérations suivantes :

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

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

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

Avant de paramétrer une analyse :

Décongeler les tubes de **HBV PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer **12 tests** dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

Remarque : 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	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Pour ce test, 200 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube Sarstedt de 2 mL préalablement étiqueté. Décongeler les tubes de CPE nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Si nécessaire, décongeler les tubes d'élué 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.
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 » (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 »)	Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Rack d'élué).

HBV ELITE MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
	(Compartiment des échantillons).	
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'élution) 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'élution de l'extraction).
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'élution de l'extraction) est de 50 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.
9	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	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'élution) dans le « Elution Rack » (Rack d'élution) (les tubes d'élution peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité).	Non applicable
13	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure en utilisant la « Lane 2 » (L2).	Non applicable
15	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Non applicable
16	Charger le CPE et le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).
17	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) 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'élution) 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).
18	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
19	Vérifier les embouts dans le(s) « Tip Rack(s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans le(s) « Tip Rack(s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.
20	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
21	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
22	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
23	Charger le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITE InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis.	Non applicable
24	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
25	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

	C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
1	Décongeler les tubes de Q-PCR Standard nécessaires (Cal1 : Q-PCR Standard 10 ² , Cal2 : Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3 : Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4 : Q-PCR Standard 10 ⁵) pendant 30 minutes à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver 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'élution) 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 » (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
4	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
5	Charger les tubes de Q-PCR Standard dans le « Elution Rack » (Rack d'élution).	Charger les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif dans le « Elution Rack » (Rack d'élution).
6	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
7	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.
9	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).
12	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) de la « Cooler Unit ». 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'élution) 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).
13	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
14	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.
15	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
16	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
17	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
18	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
19	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

Au terme de la session d'analyse, le **ELITe BeGenius** permet aux utilisateurs de visualiser,

d'approuver et de stocker les résultats, d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

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

Remarque : 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 (pour 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse). Mélanger délicatement puis centrifuger le contenu du tube pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

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

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

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

ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

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

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

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

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

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

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

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du test a été déterminée sur l'instrument ELITE InGenius en testant un panel d'échantillons de plasma ACD négatifs pour le VHB dopés avec un matériel de référence certifié du VHB (4^e étalon international de l'OMS pour le VHB, NIBSC). Une analyse de régression des probits a été réalisée sur les résultats, et la LoD a été estimée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 %.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

Limite de détection (UI/mL) pour des échantillons de plasma ACD avec le ELITE InGenius			
Cible	LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
VHB	9	6	18

La LoD, exprimée en copies/mL pour le plasma ACD, a été calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique (0,24 UI/copie). La sensibilité analytique, en copies/mL, est indiquée ci-dessous.

Limite de détection (copies/mL) pour des échantillons de plasma ACD avec le ELITE InGenius			
Cible	LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
VHB	38	27	73

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

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

Équivalence des matrices : plasma EDTA versus plasma ACD et sérum

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

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

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

Échantillon	N	Positif	Négatif	PCN	% CV Ct du Contrôle Interne	% CV Ct globale du Contrôle Interne
Plasma EDTA	30	0	30	100 %	0,86	0,98
Plasma ACD	30	0	30		1,01	

Échantillon	N	Positif	Négatif	PCN	% CV Ct du Contrôle Interne	% CV Ct globale du Contrôle Interne
Plasma EDTA	30	0	30	97 %	0,90	0,86
Sérum	30	1	29		0,82	

Un échantillon de sérum a généré un résultat positif avec un très faible titre (inférieur à 9 UI/mL), ce qui est cohérent avec un résultat négatif par le dosage immunologique portant le marquage CE DIV utilisé pour certifier la négativité de l'échantillon.

Pour 30 échantillons dopés avec un matériel de référence certifié (4th étalon international de l'OMS pour le VHB, NIBSC), le pourcentage de concordance positive (PCP) et le coefficient de variation (% CV) des valeurs Ct du VHB ont été évalués.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

Échantillon	N	Positif	Négatif	PCP	% CV Ct du VHB	% CV Ct globale du VHB
Plasma EDTA	30	30	0	100 %	1,75	1,81
Plasma ACD	30	30	0		1,88	
Plasma EDTA	30	30	0	100 %	1,59	1,49
Sérum	30	30	0		1,29	

HBV ELITE MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING

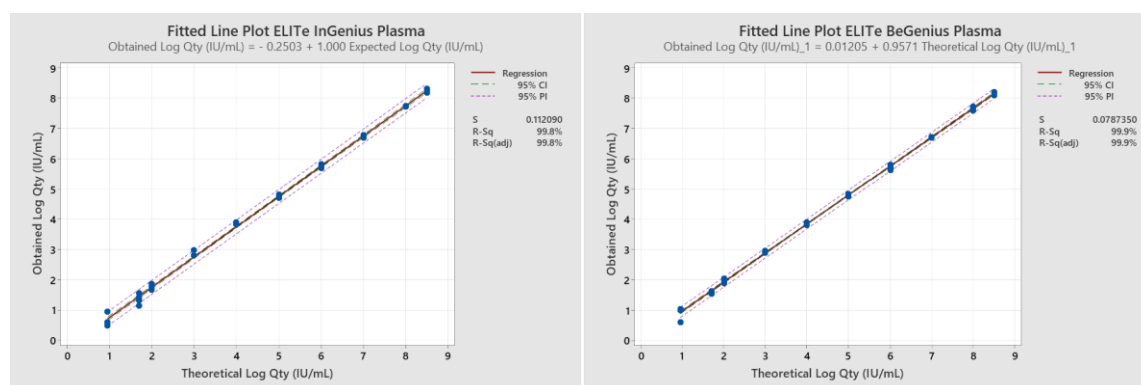
Dans ces tests, les 30 échantillons appariés de plasma EDTA et de plasma ACD, et les 30 échantillons appariés de plasma EDTA et de sérum ont montré des performances équivalentes lorsqu'ils ont été analysés à l'aide du HBV ELITE MGB Kit en association avec le ELITE InGenius.

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

Plage de mesure linéaire

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

Les résultats sont présentés sur les figures suivantes.



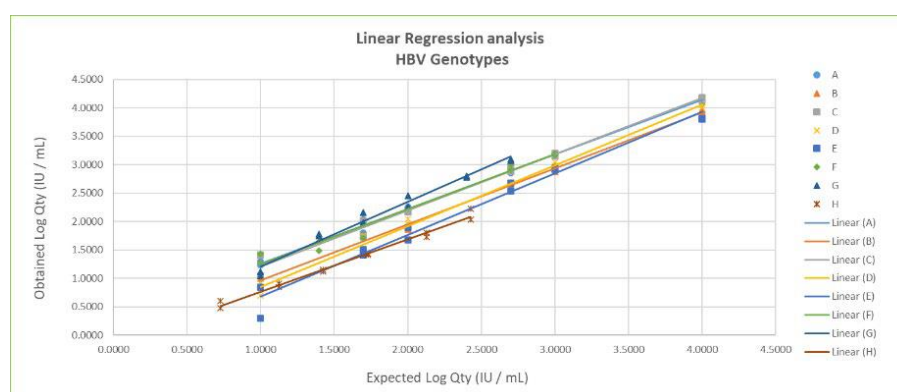
La plage de mesure linéaire en copies/mL pour le plasma ACD est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué à la section suivante.

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Plage de mesure linéaire pour le HBV ELITE MGB Kit avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius	
Limite inférieure	Limite supérieure
9 UI/mL	317750000 UI/mL
38 copies/mL	1 323 958 333 copies/mL

Pour les principaux génotypes du VHB (A, B, C, D, E, F, G), la plage de mesure linéaire a été vérifiée par une analyse d'échantillons de plasma EDTA négatifs dopés avec un matériel de référence du VHB (1^{er} panel de référence international de l'OMS pour les génotypes du VHB, PEI).

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.



La linéarité du test a été confirmée pour les principaux génotypes du VHB (A, B, C, D, E, F, G) générant des résultats quantitatifs à $\pm 0,5$ Log UI/mL et un R2 compris entre 0,979 et 0,996.

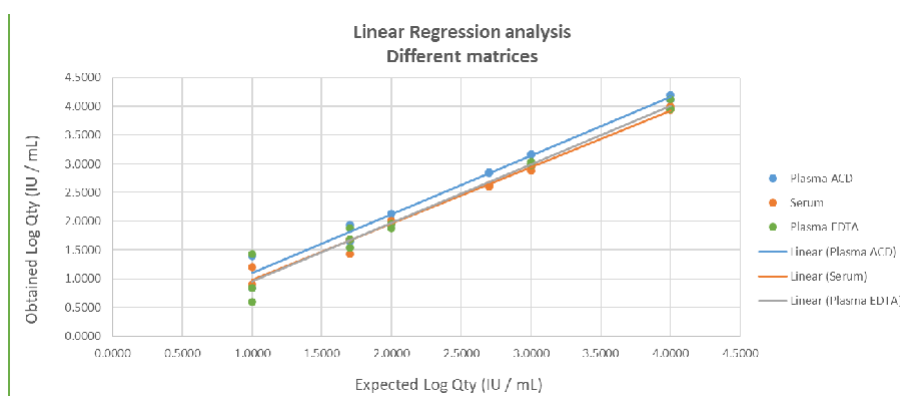
Pour les trois matrices, la plage de mesure linéaire a été vérifiée par une analyse d'échantillons de plasma EDTA négatifs, de plasma ACD négatifs et de sérum négatifs dopés avec un matériel de référence du VHB (4^e étalon international de l'OMS, NIBSC).

Les résultats sont présentés sur la figure suivante.

HBV ELITe MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING



La linéarité du test a été vérifiée pour le plasma EDTA, le plasma ACD et le sérum en générant des résultats quantitatifs à $\pm 0,5$ Log UI/mL et un R² de 0,974, 0,982 et 0,988, respectivement.

Incertitude de la courbe d'étalonnage

La valeur d'incertitude de la courbe d'étalonnage a été calculée en combinant les erreurs aléatoires (EC) de toutes les quantifications de niveau et en multipliant le résultat par le facteur de couverture $k = 2$ (incertitude combinée élargie). Celle-ci est de 0,2832 Log copies/réaction.

Niveaux de la courbe d'étalonnage	Log copies/réaction théoriques	EC	Incertitude combinée élargie
HBV Q - PCR Standard 10 ⁵	5,0000	0,0652	0,2832
HBV Q - PCR Standard 10 ⁴	4,0000	0,0641	
HBV Q - PCR Standard 10 ³	3,0000	0,0489	
HBV Q - PCR Standard 10 ²	2,0000	0,0964	

Inclusivité : efficacité de détection et de quantification de différents génotypes

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

L'inclusivité du test a été vérifiée en testant deux panels de matériels de référence du VHB (PEI et SeraCare) à 3 x la LoD.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

1 ^{er} panel de référence international de l'OMS pour le VHB		
ID de l'échantillon	Pos./Rép.	Résultat
VHB 1/A	3/3	VHB détecté
VHB 2/A	3/3	VHB détecté
VHB 3/A	3/3	VHB détecté
VHB 4/B	3/3	VHB détecté
VHB 5/B	3/3	VHB détecté
VHB 6/B	3/3	VHB détecté
VHB 7/B	3/3	VHB détecté
HBV 8/C	3/3	VHB détecté
VHB 9/C	3/3	VHB détecté
VHB 10/D	3/3	VHB détecté
VHB 11/D	3/3	VHB détecté
VHB 12/D	3/3	VHB détecté
VHB 13/E	3/3	VHB détecté

HBV ELITe MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING

1 ^{er} panel de référence international de l'OMS pour le VHB		
ID de l'échantillon	Pos./Rép.	Résultat
VHB 14/F	3/3	VHB détecté
VHB 15/G	3/3	VHB détecté

AccuSet™ HBV DNA Genotype Performance Panel		
ID de l'échantillon	Pos./Rép.	Résultat
A	3/3	VHB détecté
B	3/3	VHB détecté
C	3/3	VHB détecté
D	3/3	VHB détecté
E	3/3	VHB détecté
F	3/3	VHB détecté
H	3/3	VHB détecté

Tous les échantillons ont été correctement détectés et quantifiés à $\pm 0,5$ Log UI/mL à l'aide du HBV ELITe MGB Kit sur le ELITe InGenius.

Marqueurs potentiellement interférents : réactivité croisée

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

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

ID de l'échantillon	VHB Pos./Rép.	Résultat
Adénovirus 2	0/3	Aucune réactivité croisée
CMV	0/3	Aucune réactivité croisée
EBV	0/3	Aucune réactivité croisée
HHV6	0/3	Aucune réactivité croisée
VZV	0/3	Aucune réactivité croisée
HSV1	0/3	Aucune réactivité croisée
HSV2	0/3	Aucune réactivité croisée
HTLVI	0/3	Aucune réactivité croisée

ID de l'échantillon	VHB Pos./Rép.	Résultat
HTLVII	0/3	Aucune réactivité croisée
Parvovirus B19	0/3	Aucune réactivité croisée
Échovirus 4	0/3	Aucune réactivité croisée
Virus de la dengue de type 3	0/3	Aucune réactivité croisée
VNO	0/3	Aucune réactivité croisée
Virus de la grippe A (H1N1)	0/3	Aucune réactivité croisée
Virus de la grippe B (Florida)	0/3	Aucune réactivité croisée
RSV A2	0/3	Aucune réactivité croisée
VHA	0/3	Aucune réactivité croisée
VHC	0/3	Aucune réactivité croisée
VHE	0/3	Aucune réactivité croisée
VIH-1	0/3	Aucune réactivité croisée
VIH-2	0/3	Aucune réactivité croisée

HBV ELITe MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING

ID de l'échantillon	VHB Pos./Rép.	Résultat
<i>Candida albicans</i>	0/3	Aucune réactivité croisée
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	Aucune réactivité croisée

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

Marqueurs potentiellement interférents : inhibition

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

ID de l'échantillon	VHB Pos./Rép.	Résultat
Adénovirus 2	3/3	Aucune interférence
CMV	3/3	Aucune interférence
EBV	3/3	Aucune interférence
HHV6	3/3	Aucune interférence
VZV	3/3	Aucune interférence
HSV1	3/3	Aucune interférence
HSV2	3/3	Aucune interférence
HTLVI	3/3	Aucune interférence
HTLVII	3/3	Aucune interférence
Parvovirus B19	3/3	Aucune interférence
Échovirus 4	3/3	Aucune interférence
Virus de la dengue de type 3	3/3	Aucune interférence
VNO	3/3	Aucune interférence
Virus de la grippe A (H1N1)	3/3	Aucune interférence
Virus de la grippe B (Florida)	3/3	Aucune interférence
RSV A2	3/3	Aucune interférence
VHA	3/3	Aucune interférence
VHC	3/3	Aucune interférence
VHE	3/3	Aucune interférence
VIH-1	3/3	Aucune interférence
VIH-2	3/3	Aucune interférence
<i>Staphylococcus aureus</i>	3/3	Aucune interférence
<i>Candida albicans</i>	3/3	Aucune interférence

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

Substances potentiellement interférentes : inhibition

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Échantillon	VHB Pos./Rép.	Résultat
EDTA	3/3	Aucune interférence
Héparine	1/3	Interférence
Sang hémolytique, concentration élevée	3/3	Aucune interférence
Plasma lipémique	3/3	Aucune interférence

HBV ELITe MGB® Kit réactifs de PCR en temps réel de l'ADN
--

REF RTK602ING

Échantillon	VHB Pos./Rép.	Résultat
Plasma ictérique	3/3	Aucune interférence
Ganciclovir	3/3	Aucune interférence
Azithromycine	3/3	Aucune interférence
Glécaprévir	3/3	Aucune interférence
Entécavir	3/3	Aucune interférence
Ténofovir	3/3	Aucune interférence
Lamivudine	3/3	Aucune interférence

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

Il a été confirmé que l'héparine était capable d'inhiber l'amplification du VHB. Cependant, en raison de la valeur seuil Ct du Contrôle interne (Ct de l'IC < 31), les résultats des échantillons étaient « non valides », et pas « faux négatifs ».

Contamination croisée

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

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

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

Taux de défaillance de l'ensemble du système

Le taux de défaillance de l'ensemble du système pour le test a été évalué sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius en testant un panel d'échantillons dopés avec un matériel de référence certifié (4^e étalon international de l'OMS pour le VHB, NIBSC) à une concentration de 3 x la LoD (environ 27 UI/mL).

Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants.

ELITE InGenius - Taux de défaillance de l'ensemble du système				
Échantillons	N	Positif	Négatif	Taux de défaillance de l'ensemble du système
Plasma EDTA dopé	100	100	0	0 %
Plasma ACD dopé	30	30	0	0 %
Sérum dopé	30	30	0	0 %

ELITE BeGenius - Taux de défaillance de l'ensemble du système				
Échantillons	N	Positif	Négatif	Taux de défaillance de l'ensemble du système
Plasma EDTA dopé	100	100	0	0 %

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

Répétabilité

La répétabilité intra-session et inter-sessions du test a été évaluée sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de plasma, incluant un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VHB (4^e étalon international de l'OMS pour le VHB, NIBSC).

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

Répétabilité intra-session avec le ELITE InGenius (Jour 1)								
Échantillon	VHB				Concordance (%)	Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV		Ct moyen	EC	% CV
Négatif	8	-	-	-	100 %	29,10	0,23	0,79
3 x la LoD	8	38,90	0,50	1,29	100 %			
10 x la LoD	8	36,50	0,16	0,44	100 %			

Répétabilité intra-session avec le ELITE BeGenius (Jour 1)								
Échantillon	VHB				Concordance (%)	Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV		Ct moyen	EC	% CV
Négatif	8	-	-	-	100 %	30,06	0,37	1,24
3 x la LoD	8	38,64	0,46	1,19	100 %			
10 x la LoD	8	36,83	0,34	0,93	100 %			

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

Répétabilité inter-sessions avec le ELITE InGenius (Jour 1 + Jour 2)								
Échantillon	VHB				Concordance (%)	Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV		Ct moyen	EC	% CV
Négatif	16	-	-	-	100 %	29,15	0,51	1,74
3 x la LoD	16	38,71	0,69	1,78	100 %			
10 x la LoD	16	36,57	0,33	0,91	100 %			

Répétabilité inter-sessions avec le ELITE BeGenius (Jour 1 + Jour 2)								
Échantillon	VHB				Concordance (%)	Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV		Ct moyen	EC	% CV
Négatif	16	-	-	-	100 %	30,04	0,54	1,80
3 x la LoD	16	38,93	0,86	2,22	100 %			
10 x la LoD	16	36,87	0,35	0,94	100 %			

Dans le test de répétabilité, le HBV ELITE MGB Kit a correctement détecté la cible et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 2,22 %.

Reproductibilité

La reproductibilité inter-sites, inter-instruments et inter-lots du test a été évaluée sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de plasma, incluant un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VHB (4^e étalon international de l'OMS pour le VHB, NIBSC).

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

Reproductibilité inter-sites avec le ELITE InGenius								
Échantillon	VHB				Concordance (%)	Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV		Ct moyen	EC	% CV
Négatif	24	Indéterminé	-	-	100 %	28,73	0,45	1,58
3 x la LoD	24	37,60	0,68	1,80	100 %			
10 x la LoD	24	35,63	0,35	0,98	100 %			

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

Reproductibilité inter-instruments avec le ELITE InGenius								
Échantillon	VHB				Concordance (%)	Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV		Ct moyen	EC	% CV
Négatif	24	-	-	-	100 %	29,08	0,31	1,05
3 x la LoD	24	37,69	0,69	1,83	100 %			
10 x la LoD	24	36,04	0,55	1,53	100 %			

Reproductibilité inter-instruments avec le ELITE BeGenius								
Échantillon	VHB				Concordance (%)	Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV		Ct moyen	EC	% CV
Négatif	24	-	-	-	100 %	30,67	0,86	2,80
3 x la LoD	24	38,54	1,08	2,79	100 %			
10 x la LoD	24	36,53	0,76	2,09	100 %			

HBV ELITE MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING

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

Reproductibilité inter-lots avec le ELITE InGenius								
Échantillon	VHB				Concordance (%)	Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV		Ct moyen	EC	% CV
Négatif	48	-	-	-	100 %	29,01	0,38	1,31
3 x la LoD	48	38,05	0,85	2,23	100 %			
10 x la LoD	48	35,99	0,53	1,47	100 %			

Reproductibilité inter-lots avec le ELITE BeGenius								
Échantillon	VHB				Concordance (%)	Contrôle interne		
	N	Ct moyen	EC	% CV		Ct moyen	EC	% CV
Négatif	48	-	-	-	100 %	29,89	0,51	1,71
3 x la LoD	48	38,19	0,85	2,24	100 %			
10 x la LoD	48	36,38	0,57	1,57	100 %			

Dans le test de reproductibilité, le HBV ELITE MGB Kit a correctement détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct des cibles (en tant que % CV) de 2,79 %.

Facteur de conversion en unités internationales

Le facteur de conversion pour indiquer les résultats quantitatifs en unités internationales/mL à partir d'une valeur en copies/mL a été calculé en utilisant le matériel de référence certifié et étalonné « 4^e étalon international de l'OMS pour le VHB » (NIBSC). Le facteur de conversion a été déterminé à 0,24 UI/copie.

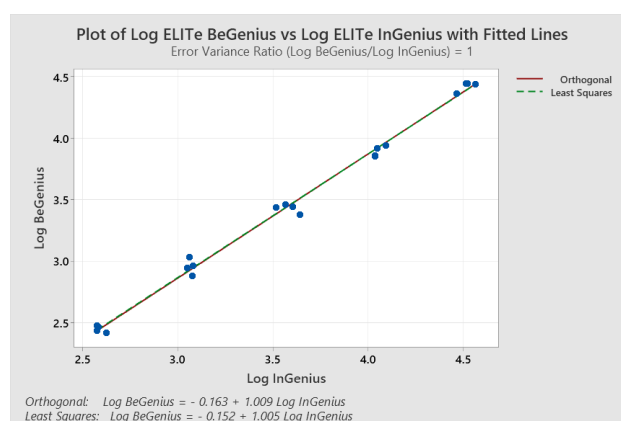
Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Facteur de conversion en unités internationales, Fc = 0,24 UI/copie						
Échantillon			Résultat			Différence log. (réf. - test)
UI/mL	Log UI/mL	N	Nombre moyen de copies/mL	Moyenne UI/mL	Moyenne Log UI/mL	
31 600	4,5000	27	133 240	31 748	4,4877	+0,0123
10 000	4,0000	27	41 965	9 999	3,9917	+0,0083
3 160	3,5000	27	14 275	3 401	3,5187	-0,0187
1 000	3,0000	27	4 337	1 033	3,0020	-0,0020

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

Le facteur de conversion du HBV ELITE MGB Kit en association avec des échantillons de plasma EDTA a été vérifié en association avec les instruments ELITE BeGenius et ELITE InGenius en utilisant le matériel de référence certifié et étalonné « 4^e étalon international de l'OMS pour le VHB » (NIBSC). Les résultats obtenus ont été analysés par une régression orthogonale et linéaire afin de calculer leur corrélation.

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



L'analyse de régression orthogonale générant une ordonnée à l'origine de -0,163 (IC à 95 % : -0,294 ; -0,032) et une pente de 1,009 (IC à 95 % : 0,973 ; 1,045). L'analyse de régression linéaire générant un R^2 de 0,994.

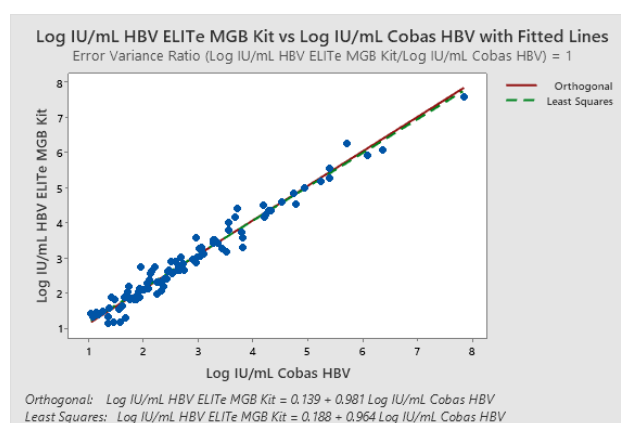
Remarque : les facteurs de conversion en étalon international (0,24 UI/copies), calculés avec le 4^e étalon international de l'OMS pour les TAN de l'ADN du VHB, peuvent également être appliqués au « 5^e étalon international de l'OMS pour les TAN de l'ADN du VHB » (NIBSC, Royaume-Uni, code 22/120).

Sensibilité diagnostique : corrélation des méthodes

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

L'étude de corrélation a été réalisée dans un seul site sur 93 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA positifs pour l'ADN du VHB en utilisant le « cobas® HBV for use on the 6800 System » à titre de comparaison.

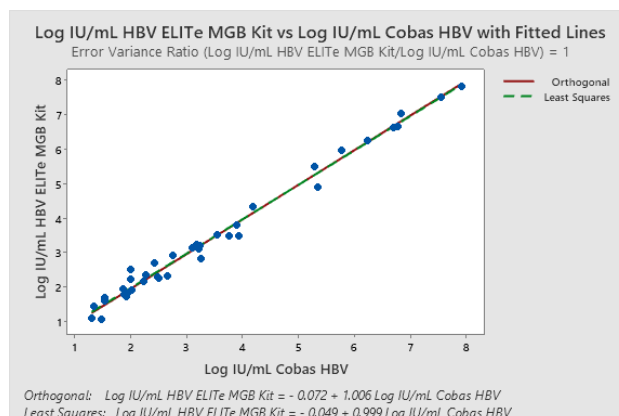
Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



Dans ce test, l'analyse de régression orthogonale générant une pente de 0,981 (IC à 95 % : 0,943 ; 1,020) et une ordonnée à l'origine de 0,139 (IC à 95 % : 0,018 ; 0,259). L'analyse de régression linéaire générant un R^2 de 0,964.

L'étude de corrélation a été réalisée dans les deux autres sites sur 38 échantillons cliniques de plasma prélevé sur EDTA positifs pour l'ADN du VHB en utilisant le « cobas® HBV for use on the 4800 System » à titre de comparaison.

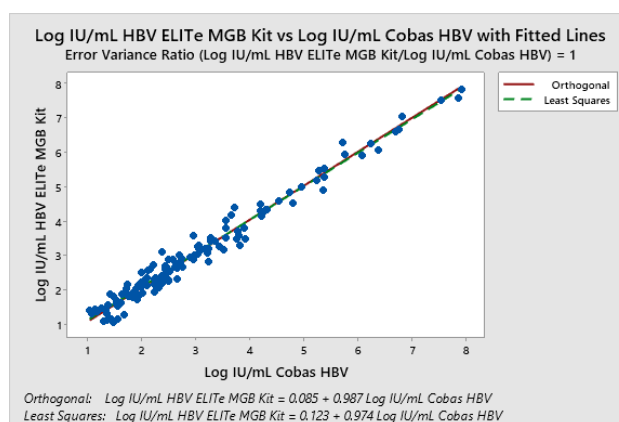
Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



Dans ce test, l'analyse de régression orthogonale générerait une pente de 1,006 (IC à 95 % : 0,968 ; 1,043) et une ordonnée à l'origine de -0,072 (IC à 95 % : -0,219 ; 0,080). L'analyse de régression linéaire générerait un R^2 de 0,987.

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

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.



Dans ce test, l'analyse de régression orthogonale générerait une pente de 0,987 (IC à 95 % : 0,959 ; 1,015) et une ordonnée à l'origine de 0,085 (IC à 95 % : -0,009 ; 0,179). L'analyse de régression linéaire générerait un R^2 de 0,974.

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

Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

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

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

HBV ELITE MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTK602ING

Echantillons de plasma EDTA négatifs pour l'ADN du VHB	N	Positif	Négatif	Spécificité diagnostique
Référence : cobas HBV for use on the 6800 System	93	3	90	96,8 %
Référence : cobas HBV for use on the 4800 System	34	0	34	100 %
Résultats regroupés	127	3	124	97,6 %

Trois échantillons ont généré des résultats positifs discordants avec des titres inférieurs à la LoD du HBV ELITE MGB Kit et des méthodes de référence. Ces échantillons peuvent générer des résultats positifs de manière aléatoire.

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

Remarque : les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et l'instrument sont présentés dans la Fiche technique du produit « HBV ELITE MGB® Kit », FTP602ING.

BIBLIOGRAPHIE

- S. Velkov et al. (2018) *Genes*. 9: 495.
D. N. Clark et al. (2017) *J. of Virology*. 91: e01785-16.
K. Linnet et al. (2004) *Clin. Chem.* 50: 732 - 740.
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30.
<https://www.mayocliniclabs.com> (test ID HBVQN).
<https://ltd.aruplab.com> (test number 3000863).
<https://ltd.clevelandcliniclabs.com> (test number 87517).

LIMITES DE LA PROCÉDURE

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

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

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

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

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

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

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

La méthode de PCR en temps réel utilisée dans ce produit présente une sensibilité analytique élevée qui la rend sensible aux contaminations 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'a pas été 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 « Caractéristiques de performance »). Dans ce cas, le résultat pourrait être un faux négatif.

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

D'éventuels polymorphismes, insertions ou délétions dans la région de l'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.

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

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

Réaction du Contrôle négatif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et du Contrôle négatif. Vérifier les volumes du 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 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.

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix, du Contrôle Interne et de l'échantillon. Vérifier les volumes du PCR Mix, du Contrôle Interne et de l'échantillon.
Dégradation du PCR Mix.	Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 7 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 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 PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Utiliser une nouvelle aliquote du 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 avec une dilution à 1:2 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). Répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
Erreur de l'instrument.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

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

Erreur de calcul de la valeur Ct	
Causes possibles	Solutions
Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon ou échantillon montrant une anomalie du signal de fluorescence.	<p>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.</p> <p>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.</p> <p>Si une valeur Ct est requise :</p> <ul style="list-style-type: none"> - répéter l'amplification de l'échantillon élué avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). - répéter l'extraction de l'échantillon avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Taux anormalement élevé de résultats positifs dans la même session d'analyse (réactions avec des valeurs Ct tardives similaires)	
Causes possibles	Solutions
Contamination inter-échantillons 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 PCR Mix et/ou de CPE.</p>

LÉGENDE DES SYMBOLES



Numéro de référence.



Limite supérieure de température.



Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.



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



Identifiant unique de dispositif



Contenu suffisant pour « N » tests.



Attention, consulter le mode d'emploi.



Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

AVIS AUX UTILISATEURS

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

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

NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

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

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

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

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

cobas® est une marque déposée de Roche Diagnostics.

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



Caution, this document is a simplified version of the official instruction for use.
Please refer to the complete document before use: www.elitechgroup.com

Intended use

The product **HBV ELITe MGB® Kit** is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as quantitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection and the quantification of the DNA of Hepatitis B Virus (HBV), extracted from clinical specimens.

The assay is validated in association with **ELITe InGenius®** and **ELITe BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of plasma collected in EDTA or in ACD and serum.

The product is intended for use as an aid in managing of HBV-infected individuals undergoing antiviral therapy.

The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory outcomes.

The product is not intended to be used for screening or to detect the presence or the exposure to transmissible agents in blood, blood components, cells, tissues, organs or any of their derivatives in order to assess their suitability for transfusion, transplantation or cell administration. The product is not intended for use as a diagnostic test to confirm the presence of HBV infection.

Amplified sequence


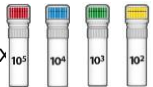


Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target	HBV polymerase gene (P gene)	FAM	HBV
Internal Control	IC2	AP525	IC

Validated matrix

› Plasma EDTA or Plasma ACD

› Serum

Kit content

HBV ELITe MGB Mix	HBV ELITe Standard	HBV Internal Control	HBV - ELITe Positive Control
 X 8	 X 1	 X 8	 X 2
Ready-to-use PCR Mix 8 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Calibrators: 4 levels 1 set of 4 tubes of 160 µL 2 reactions per tube 2 reactions per kit 2 freeze-thaw cycles	Ready-to-use IC 8 tubes of 160 µL 96 reactions per kit 6 freeze-thaw cycles	Ready-to-use Positive Control 2 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 8 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles

Maximum shelf-life: **24 months**

Storage Temperature: **-20 °C**

Other product required not provided in the kit

- | | |
|---|---|
| › ELITe InGenius instrument: INT030 | ELITe InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS |
| › ELITe BeGenius instrument: INT040 | ELITe InGenius Waste Box: F2102-000 |
| › ELITe InGenius SP 200: INT032SP200. | 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S (ELITe InGenius only) |
| › ELITe InGenius PCR Cassette: INT035PCR. | 1000 µL Filter Tips Tecan : 30180118 (ELITe BeGenius only) |

ELITe InGenius and ELITe BeGenius protocol

› Sample volume	200 µL	› Unit of quantitative result	International Unit: IU/mL
› HBV CPE volume	10 µL	› Conversion factor to IU	0.24 IU/copy
› Total elution volume	50 µL	› Frequency of controls	15 days
› PCR elution input volume	20 µL	› Frequency of calibration	60 days
› HBV PCR Mix volume	20 µL		

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performances

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity: Method Correlation	Diagnostic Specificity
Plasma / Serum	9 IU / mL 38 copies / mL	R² = 0.974 <small>131 quantified samples</small> reference methods: “cobas® HBV for use on the 4800 Systems” and “cobas® HBV for use on the 6800 Systems”, Roche Diagnostics.	97.6% <small>124 confirmed samples / 127 tested samples</small>

Sample preparation

This product is intended for use on the **ELITe InGenius®** and **ELITe BeGenius®** with the following clinical specimens identified according to laboratory guidelines, and collected, transported, and stored under the following conditions.

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
Plasma samples collected in EDTA or ACD	≤ 3 days	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 6 months
Serum	≤ 3 days	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 6 months

Do not use Plasma collected in heparin to prevent inhibition of amplification reaction and frequent invalid results.

ELITe InGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the Graphic User Interface of ELITe InGenius software to setup the run. All the steps: extraction, Real-Time PCR and result interpretation are automatically performed. Two operational modes are available: complete run (Extract + PCR), or PCR Only.

Before analysis

1. Switch on ELITe InGenius. Log in with username and password. Select the mode “Closed”.	2. Verify calibrators: Q-PCR Standard in the “Calibration” menu. Verify controls: Positive Control and Negative Control in the “Controls” menu. <i>Note:</i> All must have been run, approved and not expired.	3. Thaw the PCR Mix and the CPE tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.
--	--	---

Procedure 1 - Complete run: Extract + PCR (e.g., samples)

1. Select “Perform Run” on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: “200 µL”, elution: “50 µL”	3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID
4. Select the “Assay Protocol” of interest: HBV ELITe_PL_200_50 or HBV ELITe_Se_200_50	5. Select the method “Extract + PCR” and the sample position: Extraction Tube	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Note: If an Extract Only mode is needed, refer to the instrument user’s manual for procedure.

Procedure 2 - PCR Only (e.g., eluates, standards, controls)

1 to 4: Follow the Procedure 1 described above (select the Assay Protocol: HBV ELITe_PC and HBV ELITe_NC or HBV ELITe_STD)	5. Select the method “PCR Only” and set the sample position “Elution Tube”	6. Load the PCR Mix in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid, standards or controls	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

ELITE BeGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the Graphic User Interface of ELITE BeGenius software to setup the run. All the steps: extraction, Real-Time PCR and result interpretation are automatically performed. Two operational mode are available: complete run (Extract + PCR), or PCR Only.

Before analysis

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

Procedure 1 - Complete run: Extract + PCR (e.g., samples)

1. Select “Perform Run” on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»	2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active	3. Verify the extraction volumes: Input: “200 µL”, Eluate: “50 µL”
4. Select the “Assay Protocol” of interest (HBV ELITE_Be_PL_200_50 or HBV ELITE_Be_Se_200_50) Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4	5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit.	6. Load the PCR-Mix and the CPE in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit.
7. Load: “PCR Rack” with “PCR Cassette” and the “Extraction Rack” with the “ELITE InGenius SP 200” extraction cartridges and the required extraction consumables	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results
Note: If an Extract Only mode is needed, refer to the instrument user’s manual for procedure.		

Procedure 2 - PCR Only (e.g., eluates, standards, controls)

1. Select “Perform Run” on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»	2. Load the extracted nucleic acid or controls/calibrators barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	3. Verify the extraction volumes: Input: “200 µL”, Eluate: “50 µL”
4. Select the “Assay protocol” of interest (HBV ELITE_Be_PC and HBV ELITE_Be_NC or HBV ELITE_Be_STD)	5. Load the PCR-Mix in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load “PCR Rack” with “PCR Cassette”
7. 4. Close the door. Start the run	8. . View, approve and store the results	