Instructions for use

CMV RNA ELITe MGB® Kit

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

ELITechGroup
A BRUKER COMPANY

REF RTS115ING

UDI 08033891487324

CE 0123

IVD

HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

<table>
<tr><th>Rév.</th><th>Avis de modification</th><th>Date (jj/mm/aa)</th></tr>
<tr><td>05</td><td>Mise à jour du paragraphe : « Autres produits requis »
Mise à jour du paragraphe : « Avis aux utilisateurs »
Mise à jour du paragraphe : « Référence »</td><td>04/09/25</td></tr>
<tr><td>04</td><td>Extension de la période d'utilisation du produit à 60 jours après la première ouverture.
Changement des tubes et des capuchons pour une amélioration du processus.</td><td>03/06/25</td></tr>
<tr><td>03</td><td>Extension de l’utilisation avec le ELITe BeGenius
Nouveaux graphiques et contenu du mode d’emploi.</td><td>29/11/24</td></tr>
<tr><td>02</td><td>Mise à jour pour garantir la conformité aux exigences du Règlement (UE) 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (IVDR).
NOTE!
Les numéros de lot indiqués dans le tableau ci-dessous, et toujours sur le marché pour une utilisation à des fins de recherche uniquement (Research Use Only [RUO]), ne seront pas rappelés. Ces produits peuvent être utilisés conformément à leurs dates de péremption indiquées ci-dessous. Si vous possédez ces lots, veuillez les utiliser conformément à l’utilisation prévue décrite dans le mode d’emploi RUO et uniquement en association avec les produits STD115ING et CTR115ING correspondants (également au format RUO). Veuillez contacter le personnel d’ELITechGroup pour obtenir le mode d’emploi RUO.
<table>
<tr><th>RÉF. DU PRODUIT</th><th>Numéro de lot</th><th>Date de péremption</th></tr>
<tr><td>RTS115ING</td><td>U0524-001</td><td>31/03/2025</td></tr>
<tr><td>RTS115ING</td><td>U1123-075</td><td>31/01/2025</td></tr>
</table>
Ne pas utiliser le nouveau produit RTS115ING commercialisé sous le marquage CE-IVDR en association avec les produits STD115ING et CTR115ING correspondants qui sont toujours au format RUO.
L’utilisation du nouveau produit RTS115ING commercialisé sous le marquage CE-IVDR nécessite d’utiliser les protocoles de test CE-DIV correspondants. Veuillez contacter le personnel d’ELITechGroup pour toute information supplémentaire nécessaire.</td><td>03/06/24</td></tr>
<tr><td>00–01</td><td>Développement de nouveaux produits et modifications ultérieures</td><td>-</td></tr>
</table>

SOMMAIRE

1 APPLICATION 4
2 PRINCIPE DU TEST 4
3 DESCRIPTION DU PRODUIT 4
4 MATÉRIEL FOURNI 5
5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI 5
6 AUTRES PRODUITS REQUIS 5
7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS 6
8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES 7
9 PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius 9
10 PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius 17
11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE 24
12 BIBLIOGRAPHIE 35
13 LIMITES DE LA PROCÉDURE 35
14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS 36
15 LÉGENDE DES SYMBOLES 40
16 AVIS AUX UTILISATEURS 40
17 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE 40
Appendix A QUICK START GUIDE 42

1 APPLICATION

Le produit **CMV RNA ELITe MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test quantitatif de transcription inverse et de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la détection et la quantification de l'**ARNm du virion du cytomégalovirus humain (ARN du CMV)** extrait d'échantillons cliniques non cellulaires.

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

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide à la surveillance des infections à CMV chez des individus infectés par le CMV recevant une thérapie antivirale avec des inhibiteurs du complexe terminase du CMV.

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

Ce produit n'est pas destiné 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, ou au dépistage de ces agents, afin d'évaluer leur aptitude à la transfusion, à la transplantation ou à l'administration de cellules. Ce produit n'est pas destiné au dépistage du CMV chez les femmes enceintes.

2 PRINCIPE DU TEST

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

Les sondes ELITe MGB sont activées lorsqu'elles s'hybrident aux produits de PCR associés. **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 d'ARN du CMV 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.

3 DESCRIPTION DU PRODUIT

Le **CMV RNA ELITe MGB Kit** fournit les composants suivants :

- Le **CMV RNA PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amorces et les sondes spécifiques pour :

- l'ARNm UL21.5 (région épissée), détecté dans le Canal **CMV RNA** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée par le colorant FAM,

- le Contrôle interne (Internal Control) (**IC**), spécifique pour une région de l'ARN génomique du phage**MS2**, détecté dans le canal**IC** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor® 525 (AP525).

Le**CMV RNA 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**600 µL**de solution, un volume suffisant pour effectuer**24 tests**(en cas de traitement d'au moins 5 échantillons par session d'analyse).

- le**RT EnzymeMix**, un mélange d'enzymes optimisé et stabilisé pour la transcription inverse. Chaque tube contient**20 µL**de solution, un volume suffisant pour effectuer**48 tests** (en cas de traitement d'au moins 5 échantillons par session d'analyse).

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

4 MATÉRIEL FOURNI

Tableau 1

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
Mélange CMV RNA PCR Mix réf. RTS115ING	Mélange de réactifs pour la transcription inverse et la PCR en temps réel dans un tube muni d'un **capuchon NATUREL**	4 x 600 µL	-
RT EnzymeMix réf. RTS003-RT	Enzymes pour la transcription inverse dans un tube doté d'un **capuchon avec un insert NOIR**	2 x 20 µL	-

5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.

- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.

- Agitateur de type vortex.

- Centrifugeuse de paillasse (~5 000 tr/min).

- Microcentrifugeuse de paillasse (~13 000 tr/min).

- Micropipettes et embouts stériles avec filtre pour aérosols ou embouts stériles à déplacement positif (plage de volumes : 0,5-1000 µL).

- Tubes stériles à capuchon vissant de 2,0 mL (Sarstedt, réf. 72.694.005).

- Tubes stériles à capuchon vissant de 0,5 mL (Sarstedt, réf. 72.730.005)

- Eau de qualité biologie moléculaire.

6 AUTRES PRODUITS REQUIS

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

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

Tableau 2

Instruments et logiciels	Produits et réactifs
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA réf. INT030) **ELITe InGenius Software** version 1.3.0.19 (ou versions ultérieures) **CMVRNA ELITe_STD**, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs **CMVRNA ELITe_PC**, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif **CMVRNA ELITe_NC**, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif **CMVRNA ELITe_PL_600_50**, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma	**CMV RNA ELITe Standard** (EG SpA, réf. STD115ING) **CMV RNA - ELITe Positive Control** (EG SpA, réf. CTR115ING) **CPE - Internal Control** (EG SpA, réf. CTRCPE) **ELITe InGenius SP 1000** (EG SpA, réf. INT033SP1000) Consommables pour **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** (voir le mode d'emploi des instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius)
ELITe BeGenius (EG SpA réf. INT040) **ELITe BeGenius Software** version 2.3.0 (ou versions ultérieures) **CMVRNA ELITe_Be_STD**, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs **CMVRNA ELITe_Be_PC**, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif **CMVRNA ELITe_Be_NC**, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif **CMVRNA ELITe_Be_PL_600_50**, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de plasma	

7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Ce produit est exclusivement réservé à une utilisation in vitro.

7.1 Avertissements et précautions d'ordre général

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

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

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

Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.

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

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

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

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

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

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

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

Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.

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

7.2 Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

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

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

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

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

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

7.3 Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Tableau 3

Composant	Température de stockage	Utilisation après la première ouverture	Cycles de congélation/ décongélation
Mélange CMV RNA PCR Mix	-20 °C ou température plus basse (à l'abri de la lumière)	60 jours	jusqu'à cinq
RT EnzymeMix	-20 °C ou température plus basse	60 jours	jusqu'à 10 reprises jusqu'à 10 minutes à +2/+8 °C

8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

8.1 Échantillons

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

Tableau 4

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Plasma	EDTA	≤ 24 heures	≤ 24 heures	≤ 1 mois	Non testé

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.

NOTE!

Les échantillons de sang total pour la préparation du plasma doivent être prélevés dans de l'EDTA, puis transportés et conservés à température ambiante ou entre +2 et +8 °C pendant 24 heures maximum avant centrifugation.

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

Tableau 5 Protocoles de test pour le CMV RNA ELITe MGB Kit

Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
plasma prélevé sur EDTA	**ELITe InGenius**	**CMVRNA ELITe_PL_600_50**	copies/mL	Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1,7 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITe BeGenius	**CMVRNA ELITe_Be_PL_ 600_50**	copies/mL	Volume d'extraction : 600 µL Volume d'élution de l'extraction : 50 µL Contrôle Interne : 10 µL Facteur de dilution : 1,0 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL

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

NOTE!

Le pipetage des échantillons dans le **Extraction tube** (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.

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

Se reporter au paragraphe « Substances potentiellement interférentes » de la section 11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 24 pour vérifier les informations concernant les substances interférentes.

8.2 Calibrateurs et contrôles de la PCR

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

- Pour la courbe d'étalonnage, utiliser les quatre niveaux du produit **CMV RNA ELITe Standard** (non inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **CMVRNA ELITe_STD** ou **CMVRNA 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 **CMV RNA - ELITe Positive Control** (non inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **CMVRNA ELITe_PC** ou **CMVRNA 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) **CMVRNA ELITe_NC** ou **CMVRNA ELITe_Be_NC**.

NOTE!

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

Les courbes d'étalonnage expirent au bout de **60 jours**, après quoi il est nécessaire d'effectuer à nouveau l'étalonnage Les résultats des contrôles de la PCR expirent au bout de **15 jours**, après quoi il est nécessaire de réanalyser les Contrôles positif et négatif.

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

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

8.3 Contrôles de qualité

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

9 PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius

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

Tableau 6

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

9.1 ÉTAPE 1 – Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

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

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

9.2 ÉTAPE 2 – Paramétrage de la session d'analyse

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

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

B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement]),

C. Analyse d'étalonnage (« PCR Only » [PCR seulement]),

D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement]).

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

NOTE!

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

Avant de paramétrer une analyse :

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

NOTE!

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

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

NOTE!

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

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

Tableau 7

Nombre d'échantillons (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL

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

NOTE!

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

NOTE!

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

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

Tableau 8

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
1	**Identifier les échantillons**et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Pour ce test, 600 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube d'extraction 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. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions.	**Décongeler le tube d'élution**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	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) affiché est de 1000 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) affiché est de 1000 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution 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).

Tableau 8 (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
7	Sélectionner la position de chargement de l'échantillon en tant que « Extraction Tube » (Tube d'extraction) dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons). Vérifier que le « **Dilution factor** » (Facteur de dilution) est « **1,7** ».	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'élution [ligne du bas]). Vérifier que le « **Dilution factor** » (Facteur de dilution) est « **1,7** ».
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9	**Charger le CPE**et le**mélange réactionnel complet**sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du CPE et du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	**Charger**le**mélange réactionnel complet**sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	**Charger**la PCR Cassette (Cassette de PCR), les cartouches d'extraction ELITe InGenius SP 1000, et tous les consommables requis et échantillons à extraire.	**Charger**la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes d'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).

Tableau 9

	C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	D. Analyse du Positive Control et du Negative Control (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 Positive Control**(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**Negative Control**(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) affiché est de 1000 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) affiché est de 1000 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.	Pour les Contrôles, attribuer la « Track » (Position), **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**mélange réactionnel complet**sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	**Charger**le**mélange réactionnel complet**sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9	Vérifier les embouts dans les « **Tip Racks** » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	**Charger**la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes de Q-PCR Standard.	**Charger**la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif.
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
14	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

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

NOTE!

À la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le**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.

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

9.3 ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

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

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

NOTE!

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

Le **ELITe InGenius** génère les résultats à l'aide du **CMV RNA ELITe MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

1. Validation de la courbe d'étalonnage,

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

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) **ELITe_STD**. Les valeurs Ct versus la concentration génèrent la courbe d'étalonnage.

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

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

NOTE!

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

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

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

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

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

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

NOTE!

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

NOTE!

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

Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELITe InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible (canal **CMV RNA**) et le Internal Control (Contrôle interne) (canal **IC**) avec les paramètres de protocole de test (Assay Protocol) **CMVRNA ELITe_PL_600_50**. Les valeurs Ct des cibles résultantes sont converties en concentration.

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

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

Tableau 10

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

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

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

Tableau 11

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
CMV RNA:RNA detected, quantity equal to XXX copies/mL (ARN du CMV : ARN détecté, quantité égale à XXX copies/mL)	**L'ARN du CMV a été détecté** dans l'échantillon dans la plage de mesure du test ; sa concentration est celle affichée.
CMV RNA:RNA detected, quantity below LLoQ copies/mL (ARN du CMV : ARN détecté, quantité inférieure à LLoQ copies/mL)	**L'ARN du CMV a été détecté**dans l'échantillon ; sa concentration est inférieure à la limite inférieure de quantification de l'analyse.
CMV RNA:RNA detected, quantity beyond ULoQ copies/mL (ARN du CMV : ARN détecté, quantité supérieure à ULoQ copies/mL)	**L'ARN du CMV a été détecté**dans l'échantillon ; sa concentration est supérieure à la limite supérieure de quantification de l'analyse.
CMV RNA:RNA not detected or below LoD copies/mL (ARN du CMV : ARN non détecté ou inférieur à LoD copies/mL)	**L'ARN du CMV n'a pas été détecté**dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARN cible ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Invalid-Retest Sample (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon)	**Résultat d'analyse non valide**en raison d'un échec du Contrôle interne (en raison, par exemple, d'une extraction incorrecte, d'un transfert d'inhibiteurs). Le test doit être répété.

NOTE!

La quantification de l'ARN du CMV peut être uniquement exprimée en copies/mL et ne peut pas être rattachée à l'unité internationale de l'OMS, car cette norme se réfère à l'ADN génomique du CMV.

Échantillons rapportés comme « Invalid - Retest Sample » (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon) : dans ce cas, l'ARN du Contrôle interne n'a pas été efficacement détecté, ce qui peut être dû à des problèmes lors des étapes de prélèvement de l'échantillon, d'extraction, de transcription inverse ou

de PCR (par ex. échantillonnage incorrect, dégradation ou perte d'ARN pendant l'extraction ou présence d'inhibiteurs dans l'éluat), ce qui peut générer des résultats incorrects.

S'il reste un volume d'éluat suffisant, l'éluat peut être à nouveau testé (pur ou dilué), par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR seulement). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'un nouvel échantillon en utilisant le mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) (se reporter à la section14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS page 36).

Les échantillons rapportés comme « CMV RNA: RNA not detected or below LoD copies/mL » (ARN du CMV : ARN non détecté ou inférieur à LoD copies/mL) sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter l'ARN du CMV. Dans ce cas, l'échantillon peut être négatif pour l'ARN du CMV ou l'ARN du CMV est présent à une concentration inférieure à la limite de détection de l'analyse (se reporter à la section11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 24).

Les échantillons positifs pour l'ARN du CMV 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 « CMV RNA: RNA detected, quantity below LLoQ copies/mL » (ARN du CMV : ARN détecté, quantité inférieure à LLoQ copies/mL (se reporter à la section11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 24).

Les échantillons positifs pour l'ARN du CMV dans la plage de mesure linéaire (se reporter à la section11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 24) sont détectés et rapportés comme « CMV RNA: RNA detected, quantity equal to "XXX" copies/mL" (ARN du CMV : ARN détecté, quantité égale à « XXX » copies/mL).

Les échantillons positifs pour l'ARN du CMV qui sont au-dessus de la limite supérieure de quantification sont rapportés comme « CMV RNA: RNA detected, quantity beyond ULoQ copies/mL » (ARN du CMV : ARN détecté, quantité supérieure à ULoQ copies/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.

NOTE!

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

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

Rapport des résultats de l'échantillon

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

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

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

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

10 PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius

La procédure d'utilisation du **CMV RNA ELITe MGB Kit** avec le **ELITe BeGenius** comporte trois étapes :

Tableau 12

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])

Tableau 12 (continued)

ÉTAPE 3	Examen et approbation des résultats	1) Validation de la courbe d'étalonnage
		2) Validation des résultats du Positive Control et du Negative Control
		3) Validation des résultats des échantillons
		4) Rapport des résultats de l'échantillon

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

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

ÉTAPE 2 – Paramétrage de la session d'analyse

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

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

B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement]),

C. Analyse d'étalonnage (« PCR Only » [PCR seulement]),

D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement]).

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

NOTE!

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

Avant de paramétrer une analyse :

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

NOTE!

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

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

NOTE!

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

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

Tableau 13

Nombre d'échantillons (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0,3 µL
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0,3 µL
N = 24	580 µL	8,7 µL

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

NOTE!

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

NOTE!

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

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

Tableau 14

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
1	**Identifier les échantillons**et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Pour ce test, 600 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube Sarstedt de 2 mL (non fourni) préalablement étiqueté. Le volume en excès sera laissé dans le tube par le ELITe BeGenius. **Décongeler**les**tubes de CPE**nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions.	Si nécessaire,**décongeler les tubes d'élution**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).

Tableau 14 (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
3	Retirer tous les « Racks » de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
4	Sélectionner le « Run mode » (run mode) :**« Extract + PCR »**(Extraction + PCR).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
5	**Charger les échantillons**dans le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons). (**Remarque** : lorsque des tubes secondaires « 2 mL Tubes » sont chargés, utiliser les adaptateurs bleus pour le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons).	**Charger les échantillons**dans le « Elution Rack » (Rack d'élution).
6	Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 5 » (L5). Insérer le « Sample ID » (ID échantillon) (SID) pour chaque « Position » utilisée. (Si des tubes secondaires sont chargés, les marquer « 2 mL Tube » (Tube de 2 mL). Si les tubes secondaires ne comportent pas de codes-barres, saisir manuellement le « Sample ID » [ID échantillon]).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Pour chaque « Position », saisir le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (Volume d'éluat).
7	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 600 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 600 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.
9	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	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
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Non applicable
15	**Charger le CPE**et le**mélange réactionnel complet**dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	**Charger le mélange réactionnel complet**dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).
16	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 ». 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 ». Pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
17	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

Tableau 14 (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
18	Vérifier les embouts dans le(s) « Tip Rack(s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans le(s) « Tip Rack(s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.
19	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
20	Charger le « **PCR Rack** » (Portoir de PCR) avec la « **PCR Cassette** » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « **PCR Rack** » (Portoir de PCR) avec la « **PCR Cassette** » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
21	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
22	Charger le « **Extraction Rack** » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITe InGenius SP 1000 » et les consommables d'extraction requis.	Non applicable
23	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
24	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

Tableau 15

	C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	D. Analyse du Positive Control et du Negative Control (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 Positive Control**(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**Negative Control**(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 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
4	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
5	**Charger les tubes de Q-PCR Standard**dans le « Elution Rack » (Rack d'élution).	**Charger**les**tubes de Positive Control et de Negative Control**dans le « Elution Rack » (Rack d'élution).
6	**Insérer**le « **Elution Rack**» (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	**Insérer**le « **Elution Rack**» (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
7	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 600 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 600 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 50 µL.
9	Sélectionner le**Assay Protocol**(Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le**Assay Protocol**(Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	**Charger**le**mélange réactionnel complet**dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	**Charger**le**mélange réactionnel complet**dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).
12	**Insérer**le « **Reagent/Elution Rack** » (Rack de réactifs/ d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) de la « Cooler Unit ». Pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « **Reagent/Elution Rack** » (Rack de réactifs/ d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) de la « Cooler Unit ». Pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
13	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
14	Vérifier les embouts dans 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.
15	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

Tableau 15 (continued)

	C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	D. Analyse du Positive Control et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
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.

NOTE!

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.

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

à la fin de l'analyse, les**PCR Cassettes**(Cassettes 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 cibles et de contrôle interne pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du Assay Protocol (Protocole de test) pour générer des courbes de PCR qui sont ensuite interprétées en résultats.

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

NOTE!

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

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

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

NOTE!

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

11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

11.1 Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du test a été déterminée avec des échantillons de plasma sur leELITe InGenius en utilisant un matériel de référence d'ARN du CMV (Université de Turin). Une analyse de régression des probits a été réalisée sur les résultats et la LoD a été définie comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 %.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 16 Limite de détection pour les échantillons de plasma avec le ELITe InGenius

Cible	LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
ARN du CMV	0,19 PFU/mL	0,15 PFU/mL	0,29 PFU/mL
	30 copies/mL	N.A.	N.A.

La valeur de LoD calculée a été vérifiée en testant des échantillons de plasma dopés avec un matériel de référence d'ARN du CMV (Université de Turin) à la concentration revendiquée. Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour la cible.

La valeur de LoD calculée, à savoir 30 copies/mL, a été vérifiée en association avec le ELITe BeGenius en testant des échantillons de plasma dopés avec un matériel de référence d'ARN du CMV (NoToVir) à la concentration revendiquée. Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour la cible.

11.2 Plage de mesure linéaire

La plage de mesure linéaire de l'analyse a été déterminée avec des échantillons de plasma sur les ELITe InGenius et ELITe BeGenius en utilisant des dilutions d'un matériel de référence d'ARN du CMV (NoToVir). Une régression linéaire a été réalisée sur les résultats et la plage de mesure linéaire a été vérifiée.

Les résultats sont présentés sur les figures suivantes.

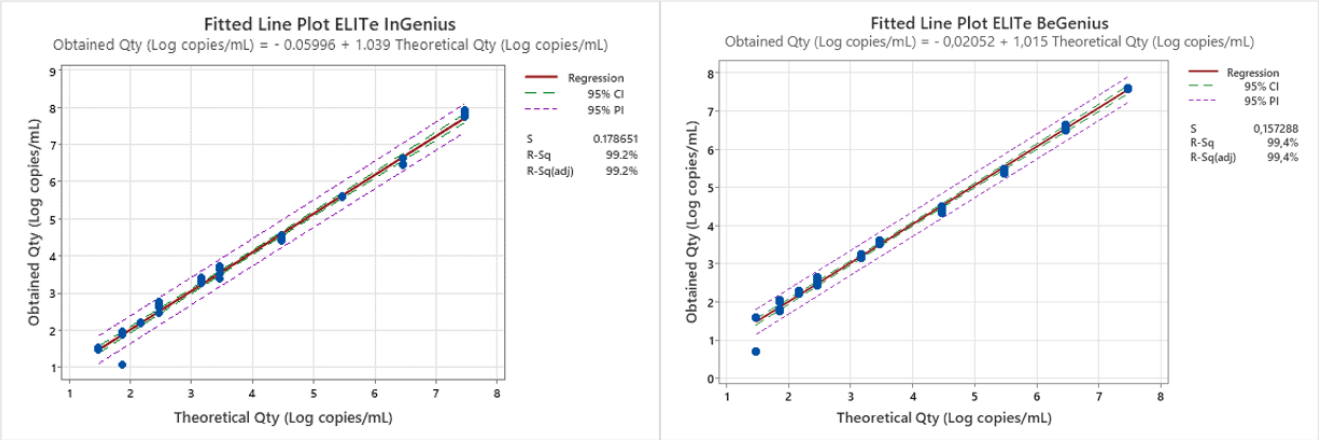


Fig. 1

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 17 Plage de mesure linéaire pour les échantillons de plasma avec les ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Limite inférieure de quantification (LLOQ)	Limite supérieure de quantification (ULOQ)
30 copies/mL	29 392 000 copies/mL

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

Les résultats sont résumés sur la figure suivante.

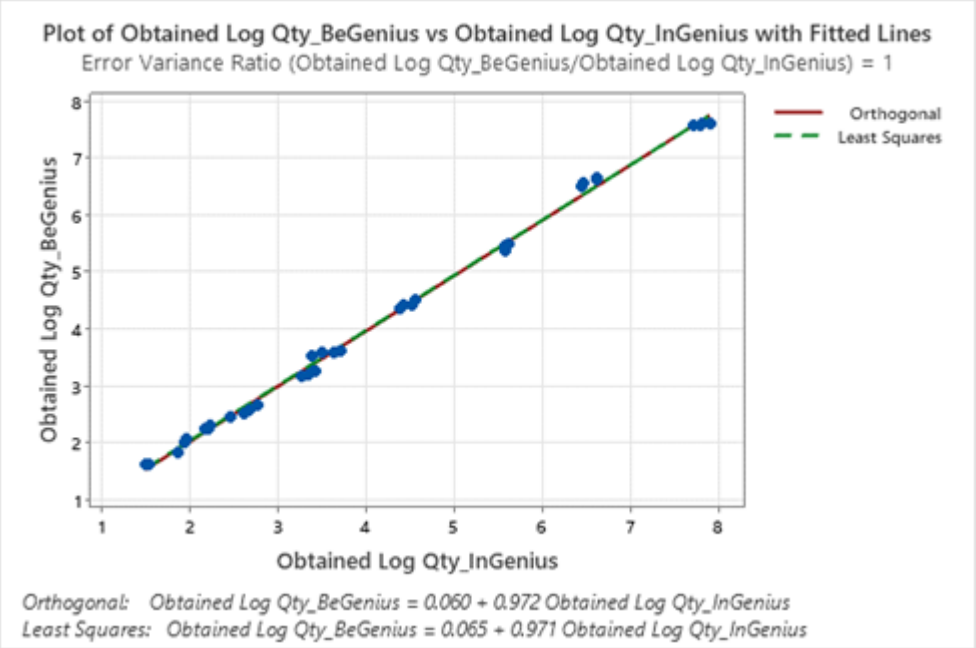


Fig. 2

L'analyse de régression orthogonale générait une ordonnée à l'origine de 0,060 (IC à 95 % : -0,015, 0,135) et une pente de 0,972 (CI à 95 % : 0,956, 0,989). L'analyse de régression linéaire générait un R2 de 0,997.

11.3 Incertitude de la courbe d'étalonnage

La valeur d'incertitude de la courbe d'étalonnage a été calculée en combinant les erreurs aléatoires (EC) de toutes les quantifications de niveau et en multipliant le résultat par le facteur de couverture k = 2 (incertitude combinée élargie). Celle-ci est de 0,1588 Log copies/réaction.

Tableau 18

Niveaux de la courbe d'étalonnage	Théorique Log copies/réaction	EC	Incertitude combinée élargie
CMV RNA Standard 10^5	5,0000	0,0273	0,1588
CMV RNA Standard 10^4	4,0000	0,0234	
CMV RNA Standard 10^3	3,0000	0,0329	
CMV RNA Standard 10^2	2,0000	0,0627	

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

L'inclusivité de l'analyse, en tant qu'efficacité de détection et de quantification de différents génotypes et souches du CMV, a été évaluée par une analyse *in silico* des séquences disponibles dans les bases de données de nucléotides.

L'analyse a montré une conservation de séquence et une absence de mutations significatives dans les séquences du CMV disponibles. On s'attend donc à une détection et une quantification efficace des différents génotypes et souches du CMV.

L'inclusivité de l'analyse a été vérifiée en association avec le ELITe InGenius en testant les différents matériels de référence du CMV (ATCC et Université de Turin) à une faible concentration.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 19

Souche du CMV	Pos./rép.	Résultat
AD169	3/3	ARN du CMV détecté
Towne	3/3	ARN du CMV détecté
Davis	3/3	ARN du CMV détecté
Merlin	3/3	ARN du CMV détecté

Tous les échantillons ont été correctement détectés comme positifs pour l'ARN du CMV à l'aide du CMV RNA ELITe MGB Kit sur le ELITe InGenius.

11.5 Marqueurs potentiellement interférents : réactivité croisée

La réactivité croisée potentielle du test avec l'ADN génomique du CMV et d'autres organismes non souhaitables a été évaluée par une analyse *in silico* des séquences disponibles dans les bases de données de nucléotides. L'analyse a montré des mésappariements **significatifs** avec l'ADN génomique du CMV. On ne s'attend donc à aucune réactivité croisée. L'analyse a montré une absence d'homologie significative avec d'autres organismes non souhaitables. On ne s'attend donc à aucune réactivité croisée.

La réactivité croisée potentielle avec d'autres organismes qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques de plasma a également été vérifiée, en association avec le ELITe InGenius, en testant un panel de matériels de référence certifiés (ATCC et NIBSC) à un titre élevé.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 20

Échantillon	Pos./rép.	Résultat
VIH-1	0/3	Aucune réactivité croisée
EBV	0/3	Aucune réactivité croisée
VHA	0/3	Aucune réactivité croisée
VHB	0/3	Aucune réactivité croisée
HHV6	0/3	Aucune réactivité croisée
HSV1	0/3	Aucune réactivité croisée
HSV2	0/3	Aucune réactivité croisée
VHE	0/3	Aucune réactivité croisée
RSV	0/3	Aucune réactivité croisée
VZV	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
Virus de la dengue de type 3	0/3	Aucune réactivité croisée
Adénovirus 2	0/3	Aucune réactivité croisée
Virus du Nil occidental	0/3	Aucune réactivité croisée
Échovirus 4	0/3	Aucune réactivité croisée
Parvovirus B19	0/3	Aucune réactivité croisée
VHC	0/3	Aucune réactivité croisée

Tableau 20 (continued)

Échantillon	Pos./rép.	Résultat
Aspergillus fumigatus	0/3	Aucune réactivité croisée
Staphylococcus aureus	0/3	Aucune réactivité croisée
Candida albicans	0/3	Aucune réactivité croisée

Tous les marqueurs potentiellement interférents testés n'ont montré aucune réactivité croisée pour l'amplification de la cible d'ARN du CMV à l'aide du CMV RNA ELITe MGB Kit.

11.6 Marqueurs potentiellement interférents : inhibition

L'inhibition potentielle du test exercée par d'autres organismes qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques de plasma a été vérifiée en testant un panel de matériels de référence certifiés (ATCC et NIBSC) à un titre élevé, dopés avec un matériel de référence d'ARN du CMV (Université de Turin) à une concentration de 3 x la LoD.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 21

Échantillon	Pos./rép.	Résultat
VIH-1	3/3	Aucune inhibition
EBV	3/3	Aucune inhibition
VHA	3/3	Aucune inhibition
VHB	3/3	Aucune inhibition
HHV6	3/3	Aucune inhibition
HSV1	3/3	Aucune inhibition
HSV2	3/3	Aucune inhibition
VHE	3/3	Aucune inhibition
RSV	3/3	Aucune inhibition
VZV	3/3	Aucune inhibition
Virus de la grippe A (H1N1)	3/3	Aucune inhibition
Virus de la grippe B (Florida)	3/3	Aucune inhibition
Virus de la dengue de type 3	3/3	Aucune inhibition
Adénovirus 2	3/3	Aucune inhibition
Virus du Nil occidental	3/3	Aucune inhibition
Échovirus 4	3/3	Aucune inhibition
Parvovirus B19	3/3	Aucune inhibition
VHC	3/3	Aucune inhibition
Aspergillus fumigatus	3/3	Aucune inhibition
Staphylococcus aureus	3/3	Aucune inhibition
Candida albicans	3/3	Aucune inhibition

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

11.7 Substances potentiellement interférentes : réactivité croisée

La réactivité croisée exercée par des substances potentiellement interférentes (endogènes et exogènes) qui peuvent être observées dans des échantillons cliniques de plasma a été évaluée pour le test par l'analyse d'un panel de substances à une concentration pertinente.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 22

Échantillon	Pos./rép.	Résultat
Plasma ictérique	0/3	Aucune réactivité croisée
Plasma lipémique	0/3	Aucune réactivité croisée
Sang hémolytique, concentration élevée	0/3	Aucune réactivité croisée
Sang hémolytique, concentration moyenne	0/3	Aucune réactivité croisée
Sang hémolytique, faible concentration	0/3	Aucune réactivité croisée
Plasma hépariné	0/3	Échantillon non valide
Plasma EDTA	0/3	Aucune réactivité croisée
Azithromycine	0/3	Aucune réactivité croisée
Cyclosporine A	0/3	Aucune réactivité croisée
Valganciclovir	0/3	Aucune réactivité croisée
Cidofovir	0/3	Aucune réactivité croisée
Abacavir	0/3	Aucune réactivité croisée
Ganciclovir	0/3	Aucune réactivité croisée
Foscarnet	0/3	Aucune réactivité croisée
Ribavirine	0/3	Aucune réactivité croisée
Letermovir	0/3	Aucune réactivité croisée

Le test a montré que toutes les substances testées n'exercent aucune réaction croisée avec l'amplification de la cible d'ARN du CMV en utilisant le CMV RNA ELITe MGB Kit.

Il a été confirmé que l'héparine était capable d'inhiber l'analyse car ces échantillons ont donné un résultat « Invalid » (Non valide) en raison de l'échec du Contrôle interne (Ct IC > 32) au lieu d'un résultat « Négatif ».

11.8 Substances potentiellement interférentes : inhibition

L'inhibition du test par des substances potentiellement interférentes (endogènes et exogènes) qui pourraient être présentes dans des échantillons cliniques de plasma a été évaluée, en association avec le ELITe InGenius, par l'analyse d'un panel de substances à une concentration pertinente, dopées avec un matériel de référence d'ARN du CMV (Université de Turin) à une concentration de 3 x la LoD.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 23

Échantillon	Pos./rép.	Résultat
Plasma ictérique	3/3	Aucune inhibition
Plasma lipémique	3/3	Aucune inhibition
Sang hémolytique, concentration élevée	3/3	Aucune inhibition
Sang hémolytique, concentration moyenne	3/3	Aucune inhibition
Sang hémolytique, faible concentration	3/3	Aucune inhibition
Plasma hépariné	0/3	Échantillon non valide
Plasma EDTA	3/3	Aucune inhibition
Azithromycine	3/3	Aucune inhibition
Cyclosporine A	3/3	Aucune inhibition
Valganciclovir	3/3	Aucune inhibition
Cidofovir	3/3	Aucune inhibition
Abacavir	3/3	Aucune inhibition
Ganciclovir	3/3	Aucune inhibition
Foscarnet	3/3	Aucune inhibition
Ribavirine	3/3	Aucune inhibition
Letermovir	3/3	Aucune inhibition

Le test a montré que toutes les substances, à l'exception de l'héparine, n'inhibent pas la détection et la quantification de la cible d'ARN du CMV en utilisant le CMV RNA ELITe MGB Kit.

Il a été confirmé que l'héparine était capable d'inhiber l'analyse. Cependant, en raison de l'échec du Contrôle interne (Ct IC > 32), ces échantillons ont donné un résultat « Invalid » (Non valide) au lieu d'un faux « Négatif ».

11.9 Contamination croisée

L'éventuelle contamination croisée pendant l'analyse a été évaluée en association avec le ELITe InGenius en testant 30 échantillons de plasma négatifs pour l'ARN du CMV en alternance avec 30 échantillons de plasma dopés avec un matériel de référence d'ARN du CMV (Université de Turin) à un titre élevé.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 24

Échantillons	N	Négatif	Positif	Concordance
Plasma dopé avec de l'ARN du CMV à environ 1×10^6 copies/mL	30	0	30	100 %
Plasma négatif pour l'ARN du CMV	30	30	0	100 %

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

11.10 Taux de défaillance de l'ensemble du système

Le taux de défaillance de l'ensemble du système a été évalué, en association avec le ELITe InGenius, par l'analyse d'un panel d'échantillons dopés avec un matériel de référence d'ARN du CMV (Université de Turin) à une concentration de 3 x la LoD.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 25

Échantillons	N	Négatif	Positif	Taux de défaillance de l'ensemble du système
Plasma dopé avec de l'ARN du CMV	50	0	50	0 %

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

11.11 Répétabilité

La répétabilité intra-session et inter-sessions du test a été évaluée sur le ELITe InGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de plasma, incluant un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence d'ARN du CMV (Université de Turin) à des concentrations de 3 x la LoD et de 10 x la LoD.

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

Tableau 26 Répétabilité intra-session avec le ELITe InGenius (Jour 1)

Échantillon	Pos./rép.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance
Négatif	0/8	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	8/8	33,19	0,43	1,30	100 %
10 x la LoD	8/8	31,69	0,09	0,27	100 %

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

Tableau 27 Répétabilité inter-sessions avec le ELITe InGenius (Jour 1 et Jour 2)

Échantillon	Pos./rép.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance
Négatif	0/16	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	16/16	33,19	0,34	1,03	100 %
10 x la LoD	16/16	31,62	0,18	0,56	100 %

Dans les tests de répétabilité en association avec le ELITe InGenius, le CMV RNA ELITe MGB Kit a détecté la cible d'ARN du CMV comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) inférieure à 5 %.

La répétabilité intra-session et inter-sessions du test a été évaluée sur le 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 d'ARN du CMV (NoToVir) à des concentrations de 3 x la LoD et de 10 x la LoD.

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

Tableau 28 Répétabilité intra-session avec le ELITe BeGenius (Jour 1)

Échantillon	Pos./rép.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance
Négatif	0/8	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	8/8	36,17	0,87	2,40	100 %
10 x la LoD	8/8	33,64	0,28	0,82	100 %

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

Tableau 29 Répétabilité inter-sessions avec le ELITe BeGenius (Jour 1 et Jour 2)

Échantillon	Pos./rép.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance
Négatif	0/16	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	16/16	35,82	0,79	2,22	100 %
10 x la LoD	16/16	33,54	0,29	0,86	100 %

Dans les tests de répétabilité en association avec le ELITe BeGenius, le CMV RNA ELITe MGB Kit a détecté la cible d'ARN du CMV comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) inférieure à 5 %.

11.12 Reproductibilité

La reproductibilité inter-lots et inter-instruments du test a été évaluée sur le ELITe InGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de plasma, incluant un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence d'ARN du CMV (Université de Turin) à des concentrations de 3 x la LoD et de 10 x la LoD.

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

Tableau 30 Reproductibilité inter-lots avec le ELITe InGenius

Échantillon	Pos./rép.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance
Négatif	0/48	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	48/48	33,18	0,33	0,99	100 %
10 x la LoD	48/48	31,47	0,31	1,00	100 %

Un résumé des résultats de la reproductibilité inter-instruments (avec trois instruments) est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 31 Reproductibilité inter-instruments avec le ELITe InGenius

Échantillon	Pos./rép.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance
Négatif	0/24	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	24/24	34,53	0,56	1,63	100 %
10 x la LoD	24/24	32,28	0,31	0,97	100 %

Dans les tests de reproductibilité en association avec le ELITe InGenius, le CMV RNA ELITe MGB Kit a détecté la cible d'ARN du CMV comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) inférieure à 5 %.

La reproductibilité inter-lots et inter-instruments du test a été évaluée sur le 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 d'ARN du CMV (NoToVir) à des concentrations de 3 x la LoD et de 10 x la LoD.

Un exemple des résultats de la reproductibilité inter-lots (sur un seul instrument, avec deux lots) est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 32 Reproductibilité inter-lots avec le ELITe BeGenius

Échantillon	Pos./rép.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance
Négatif	0/8	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	8/8	34,96	0,16	0,46	100 %
10 x la LoD	8/8	32,80	0,25	0,75	100 %

Un résumé des résultats de la reproductibilité inter-instruments (avec deux instruments) est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 33 Reproductibilité inter-instruments avec le ELITe BeGenius

Échantillon	Pos./rép.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance
Négatif	0/16	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	16/16	34,48	0,58	1,67	100 %
10 x la LoD	16/16	32,58	0,34	1,05	100 %

Dans les tests de reproductibilité en association avec le ELITe BeGenius, le CMV RNA ELITe MGB Kit a détecté la cible d'ARN du CMV comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) inférieure à 5 %.

11.13 Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, évaluée par le pourcentage de concordance négative avec une méthode de référence, a été évaluée en analysant des échantillons cliniques de plasma négatifs pour l'ADN du CMV testés par un laboratoire externe avec une méthode de diagnostic moléculaire de référence portant le marquage CE DIV (EG SpA).

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

Les résultats de l'étude de la spécificité diagnostique, après analyse des échantillons discordants, sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 34

Échantillons	N	Positif	Négatif	Non valide	Spécificité diagnostique
Plasma issu de sang total négatif pour l'ADN du CMV	100	0	100	0	100 %

La spécificité diagnostique du CMV RNA ELITe MGB Kit était de 100 %.

La valeur seuil Ct du Contrôle interne est définie à 32 pour la matrice de plasma validée.

11.14 Sensibilité diagnostique : confirmation des échantillons positifs

La sensibilité diagnostique du test, évaluée par le pourcentage de concordance positive avec une méthode de référence et avec un matériel de référence, a été évaluée en analysant :

- des échantillons cliniques de plasma positifs pour l'ADN du CMV provenant de 8 patients transplantés recevant un traitement antiviral avec un inhibiteur du complexe terminase du CMV (Letermovir, PREVYMIS™, Merck & Co.), testés par un laboratoire externe avec une méthode de référence portant le marquage CE DIV (EG SpA) après un traitement par la DNase (I. Cassaniti et al. 2021),
- des échantillons cliniques de plasma dopés avec un matériel de référence d'ARN du CMV (Université de Turin) à une concentration de 3 x, 5 x, 10 x, 30 x et 50 x la LoD.

Étant donné que les performances analytiques duELITe BeGeniussont équivalentes à celles duELITe InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la sensibilité diagnostique du test obtenue en association avec leELITe InGeniuss'applique également auELITe BeGenius.

Les résultats de l'étude de la sensibilité diagnostique, après analyse des échantillons discordants, sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 35

Échantillons	N	Positif	Négatif	Non valide	Sensibilité diagnostique
Plasma positif pour l'ADN du CMV après traitement par la DNase	10	9	1	0	90 %
Plasma dopé avec de l'ARN du CMV	70	70	0	0	100 %
Tous les échantillons de plasma	80	79	1	0	98,75 %

La sensibilité diagnostique globale duCMV RNA ELITe MGB Kitétait de 98,75 %.

11.15 Sensibilité diagnostique : concordance avec la méthode

La sensibilité diagnostique du test, en tant que concordance avec une méthode de référence utilisant la valeur Kappa de Cohen, a été évaluée en analysant des échantillons cliniques de plasma négatifs et positifs pour l'ADN du CMV provenant de 27 patients transplantés recevant un traitement antiviral avec un inhibiteur du complexe terminase du CMV (Letermovir, PREVYMIS™, Merck & Co.), testés par un laboratoire externe avec une méthode de référence portant le marquage CE DIV (EG SpA) après un traitement par la DNase (I. Cassaniti et al. 2021).

Étant donné que les performances analytiques duELITe BeGeniussont équivalentes à celles duELITe InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la sensibilité diagnostique du test obtenue en association avec leELITe InGeniuss'applique également auELITe BeGenius.

Les résultats de l'étude de la sensibilité diagnostique, après analyse des échantillons discordants, sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 36

		ADN du CMV après traitement par la DNase		
		Pos	Nég	Total
CMV RNA ELITe MGB Kit	Pos	9	2	11
	Nég	1	81	82
	Total	10	83	93

LeCMV RNA ELITe MGB Kita généré une aire sous la courbe (ASC) de 96,8 % et une valeur Kappa de Cohen égale à 0,839, correspondant à une parfaite concordance avec les résultats obtenus pour l'ADN du CMV sur du plasma traité par la DNase.

NOTE!

Les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et les instruments sont présentés dans la fiche technique du produit « CMV RNA ELITe MGB Kit », FTP 115ING.

12 BIBLIOGRAPHIE

W. D. Rawlinson et al. (1993) *J. Virology* 67: 5502 - 5513

D. Wang et al. (2004) *PNAS* 101: 16642 - 16647

W. A. Bresnahan (2000) *Science* 288: 2373 - 2376

A. E. Greijer et al. (2000) *J. Virology* 74: 9078 - 9082

E. Terhune et al. (2004) *J. Virology* 78: 10390 - 10398

E. Sarcinella et al. (2004) *Virus Research* 104: 129 - 137

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

G. Gerna et al. (2019) *Expert Opinion on Pharmacotherapy* 20: 1429 - 1438

I. Cassaniti et al. (2021) *Am. J. Transplantat.* 21: 1622 - 1628

C. N. Kotton et al. (2025) *Transplantation* 1; 109(7):1066-1110

G. Piccirilli et al. (2024) *J. Clinical Microbiology* 62(5): e0163023.

13 LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser ce produit uniquement avec les échantillons cliniques suivants : plasma prélevé sur EDTA.

Il n'existe actuellement aucune donnée disponible concernant les performances du produit avec d'autres échantillons cliniques.

Le plasma prélevé sur EDTA doit être séparé du sang total conservé à température ambiante ou à +2/+8 °C pendant 24 heures maximum.

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

Ce produit n'est pas destiné 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, ou au dépistage de ces agents, afin d'évaluer leur aptitude à la transfusion, à la transplantation ou à l'administration de cellules.

Ce produit n'est pas destiné au dépistage du CMV chez les femmes enceintes.

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

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

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

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

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

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

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

En raison de différences intrinsèques entre les technologies, il est recommandé aux utilisateurs d'effectuer des études de corrélation des méthodes avant d'envisager d'utiliser un nouveau produit.

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

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

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

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

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

14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Tableau 37

Réaction du Q-PCR Standard, courbe d'étalonnage ou réaction du Contrôle positif non valide	
Causes possibles	**Solutions**
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet, des étalons Q-PCR Standards et du Contrôle positif. Vérifier le volume du mélange réactionnel complet, des étalons Q-PCR Standards et du Contrôle positif.
Erreur de préparation du mélange réactionnel complet.	Vérifier le volume des réactifs utilisés pendant la préparation du mélange réactionnel complet.

Tableau 37 (continued)

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

Tableau 38

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

Tableau 39

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	**Solutions**
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet, du Contrôle interne et de l'échantillon. Vérifier les volumes du mélange réactionnel complet, du Contrôle interne et de l'échantillon.
Erreur de préparation du mélange réactionnel complet.	Vérifier le volume des réactifs utilisés pendant la préparation du mélange réactionnel complet.

Tableau 39 (continued)

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

Tableau 40

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

Tableau 41

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.	En cas d'observation d'une amplification significative sur la courbe de PCR : - sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat comme positif. Si aucune amplification n'est observée dans la courbe de PCR, sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat comme négatif ou le laisser non valide. Si une valeur Ct est requise : - répéter l'amplification de l'échantillon élué avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). - répéter l'extraction de l'échantillon avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Tableau 42

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

15 LÉGENDE DES SYMBOLES

REF	Numéro de référence.
	Limite supérieure de température.
LOT	Code de lot.
	Date de péremption (dernier jour du mois).
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.
CE 0123	Conforme aux exigences du Règlement IVDR 2017/746/CE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. Certification délivrée par TÜV SÜD Product Service GmbH, Allemagne.
UDI	Identifiant unique de dispositif
	Contenu suffisant pour << N >> tests.
	Consulter le mode d'emploi.
CONT	Contenu.
	Tenir à l'abri de la lumière du soleil.
	Fabricant.

16 AVIS AUX UTILISATEURS

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

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

17 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 des brevets américains numéros 7319022, 7348146, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8163910, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 et par les brevets EP numéros 2689031, 2714939, 2736916, 2997161, ainsi que par des demandes de brevet actuellement en instance.

La « méthode de détection et de quantification du cytomégalovirus humain au moyen des ARN des virions » est couverte par un brevet italien (102020000007357) et des demandes 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.

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. AcroMetrix™ est une marque déposée de Thermo Fisher Scientific Inc. PREVYMIS™ est une marque de commerce de Merck & Co.

Appendix A CMV RNA ELITe MGB Kit utilisé en association avec les plateformes Genius series ®



ATTENTION

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

APPLICATION

Le produit **CMV RNA ELITe MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test quantitatif de transcription inverse et de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la détection et la quantification de l'**ARNm du virion du cytomégalovirus humain (ARN du CMV)** extrait d'échantillons cliniques non cellulaires.

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

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide à la surveillance des infections à CMV chez des individus infectés par le CMV recevant une thérapie antivirale avec des inhibiteurs du complexe terminase du CMV.

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

Ce produit n'est pas destiné 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, ou au dépistage de ces agents, afin d'évaluer leur aptitude à la transfusion, à la transplantation ou à l'administration de cellules. Ce produit n'est pas destiné au dépistage du CMV chez les femmes enceintes.

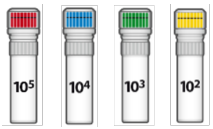
Séquence amplifiée

Séquence	Gène	Fluorophore	Canal
Cible	ARNm UL21.5 (région épissée)	FAM	ARN du CMV
Contrôle Interne	phage MS2	AP525	IC

Matrices validées

- **Plasma** prélevé sur EDTA

Contenu du kit et produits associés

CMV RNA ELITe MGB Kit (RTS115ING)		CMV RNA ELITe Standard (STD115ING)	CMV RNA - ELITe Positive Control (CTR115ING)
 X 4	 x 2	 X 2	 X 2
CMV RNAPCR Mix 4 tubes de 600 µL 96 réactions par kit 5 cycles de congélation/ décongélation	RT EnzymeMix 2 tubes de 20 µL 96 réactions par kit 10 cycles de congélation/ décongélation	4 niveaux prêts à l'emploi : 10^5, 10^4, 10^3, 10^2 2 jeux de 4 tubes de 160 µL 4 cycles de congélation/ décongélation	Contrôle positif prêt à l'emploi 2 tubes de 160 µL 8 réactions par kit 4 cycles de congélation/ décongélation
Durée de conservation maximale : **18 mois** Température de stockage : **-20 °C**		Durée de conservation maximale : **24 mois** Température de stockage : **-20 °C**	Durée de conservation maximale : **24 mois** Température de stockage : **-20 °C**

Autres produits requis non inclus dans le kit

• Instrument ELITe InGenius : INT030. • Instrument ELITe BeGenius : INT040. • ELITe InGenius SP 1000 : INT033SP1000.	• CPE – Internal Control : CTRCPE • Consommables pour **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** (voir le mode d'emploi des instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius)

Protocole avec les ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Tableau 43

› Volume d'extraction › Volume de CPE › Volume d'élution de l'extraction › Volume initial de PCR de l'échantillon	600 µL 10 µL 50 µL 20 µL	› Volume de PCR Mix › Fréquence des contrôles › Fréquence de l'étalonnage › Unité du résultat quantitatif	20 µL 15 jours 60 jours copies/mL

Performances de ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Matrice	Limite de détection	Sensibilité	Spécificité
Plasma prélevé sur EDTA	30 copies/mL	**98,75 %** *80 échantillons testés*	**100 %** *100 échantillons testés*

Préparation de l'échantillon

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

Tableau 44

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	**+2/+8 °C**	**-20 ± 10 °C**	**-70 ± 15 °C**
Plasma	EDTA	≤ 24 heures	≤ 24 heures	≤ 1 mois	Non testé

Procédures ELITe InGenius

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

Avant l'analyse

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

4. Préparer le mélange réactionnel complet.

Nombre d'échantillons (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile.	**2.** Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 1000 µL », élution : « 50 µL ».	**3.** Scanner les code-barres des échantillons à l'aide du lecteur de code-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon.
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) : CMVRNA ELITe_ PL_600_50	**5.** Sélectionner la méthode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) et la position d'échantillon « Extraction Tube » (Tube d'extraction). ". Vérifier que le « Dilution factor » (Facteur de dilution) est « 1,7 ».	**6.** Charger le mélange réactionnel complet dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks).
7. Charger : la cassette de PCR, la cartouche d'extraction, le tube d'élution, la cassette à embouts, les racks de tubes d'extraction.	**8.** Fermer le tiroir. Démarrer le cycle.	**9.** Visualiser, approuver et enregistrer les résultats.

NOTE!

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

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

1. à 4. Suivre la Procédure 1 décrite ci-dessus (sélectionner les protocoles de test (Assay Protocols) : CMVRNA ELITe_PC et CMVRNA ELITe_NC ou CMVRNA ELITe_STD ou CMVRNA ELITe_PL_600_50	**5.** Sélectionner la méthode « PCR Only » (PCR seulement) et la position de l'échantillon « Elution Tube » (Tube d'élution)	**6.** Charger le mélange réactionnel complet dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7. Charger : le rack de PCR Cassette (Cassette de PCR) et le rack de tubes d'élution avec l'acide nucléique extrait	**8.** Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	**9.** Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

Procédures ELITe BeGenius

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

Avant l'analyse

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

4. Préparer le mélange réactionnel complet :

Nombre d'échantillons (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µL	(N + 1) x 0,3 µL
6 ≤ N ≤ 11	(N + 2) x 20 µL	(N + 2) x 0,3 µL
N = 12	290 µL	4,4 µL
13 ≤ N ≤ 18	(N + 3) x 20 µL	(N + 3) x 0,3 µL
19 ≤ N ≤ 23	(N + 4) x 20 µL	(N + 4) x 0,3 µL
N = 24	580 µL	8,7 µL

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile puis cliquer sur le mode d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR)	**2.** Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) avec les échantillons à code-barres dans la Cooler Unit. La lecture des code-barres est déjà active	**3.** Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 1000 µL », Éluat : « 50 µL »
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) : CMVRNA ELITe_Be_PL_600_50 **Remarque :** Si une deuxième extraction est exécutée, répéter les étapes 2 à 4	**5.** Imprimer les étiquettes à code-barres pour les apposer sur les tubes d'élution vides. Charger les tubes dans le « Elution Rack » (Rack d'élution) et insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	**6.** Charger le mélange réactionnel complet et le Contrôle interne dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.
7. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) et le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITe InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis	**8.** Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	**9.** Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

NOTE!

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile, puis cliquer sur le mode d'analyse « PCR Only » (PCR seulement)	**2.** Charger les tubes à code-barres contenant les acides nucléiques extraits ou les contrôles dans le « Elution Rack » (Rack d'élution), puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	**3.** Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 1000 µL », Éluat : « 50 µL »
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt (CMVRNA ELITe_Be_PC et CMVRNA ELITe_Be_NC ou CMVRNA ELITe_Be_STD ou CMVRNA ELITe_Be_PL_600_50)	**5.** Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	**6.** Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR)
7. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	**8.** Visualiser, approuver et enregistrer les résultats	

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