



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

Uffici: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11

E-mail: emd.support@elitechgroup.com

Sito internet: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 13/01/2026

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit» Ref. RTS160ING

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

- Replacement of 2mL tube 953-217 and white cap 953-223 with 2mL tube 953-065 related to PCR Mix component tubes.
- Update of the paragraph "Symbols" with the symbol "Consult instructions for use".
- Update of the paragraph "Notice to purchaser: limited license".

Composition and use of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE



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



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



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



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



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



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



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

Bureaux : Tél. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E-mail : emd.support@elitechgroup.com
Site internet : www.elitechgroup.com

Respiratory Viral PLUS ELITe MGB® Kit

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

REF RTS160ING

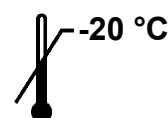


TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	page 1
PRINCIPES DU TEST	page 2
DESCRIPTION DU PRODUIT	page 3
MATÉRIEL FOURNI	page 3
MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	page 3
AUTRES PRODUITS REQUIS	page 4
AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	page 4
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	page 5
PROCÉDURE	page 6
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	page 13
BIBLIOGRAPHIE	page 17
LIMITES DE LA PROCÉDURE	page 18
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	page 19
LÉGENDE DES SYMBOLES	page 21
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	page 22

APPLICATION

Le produit « **Respiratory Viral PLUS ELITe MGB® Kit** » fait partie d'un test qualitatif de transcription inverse et d'amplification des acides nucléiques multiplexe pour la détection et l'identification de l'ARN du **virus de la grippe A (FluA)**, **virus de la grippe B (FluB)**, **virus respiratoire syncytial (RSV)** et **métapneumovirus humain (hMPV)** dans des échantillons cliniques.

Le test a été validé sur le système **ELITe InGenius®** avec des échantillons respiratoires prélevés à l'écouvillon et des échantillons de lavage bronchoalvéolaire (LBA).

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic des infections respiratoires, en association avec les données cliniques du patient et d'autres résultats d'analyse de laboratoire.

PRINCIPES DU TEST

Le test consiste en réaction de transcription inverse et d'amplification en temps réel multiplexe (méthode en une seule étape).

À partir d'ARN extrait de chaque échantillon à tester, différentes réactions de transcription inverse et d'amplification sont réalisées dans la cassette de PCR afin d'amplifier les cibles suivantes :

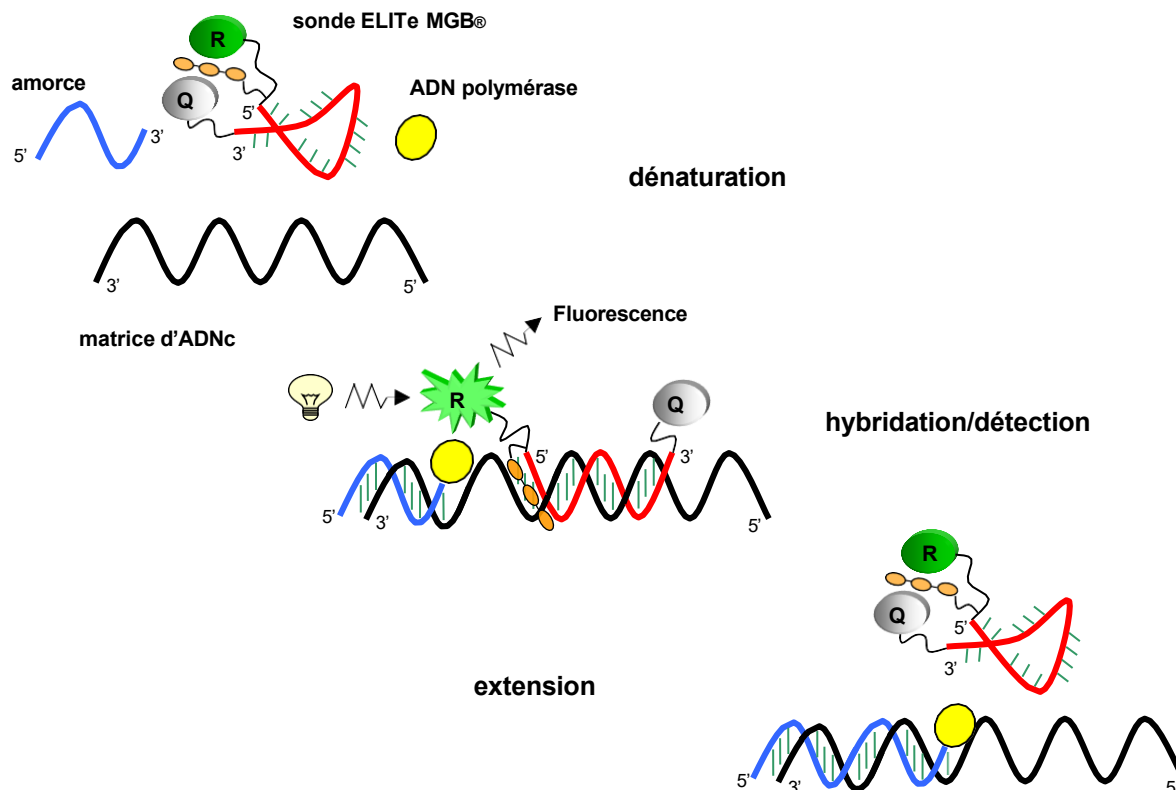
- Séquence du gène de la protéine de matrice du virus de la grippe A (FluA), détectée par la sonde spécifique dans le canal **FluA** (Canal 5),
- Séquence du gène de la protéine de matrice du virus de la grippe B (FluB), détectée par la sonde spécifique dans le canal **FluB** (Canal 1),
- Séquence du gène de la protéine de matrice du RSV, détectée par la sonde spécifique dans le canal **RSV** (Canal 4),
- Séquence du gène de la protéine de fusion du hMPV, détectée par la sonde spécifique dans le canal **hMPV** (Canal 6).

Le PCR Mix amplifie également le contrôle interne d'extraction et d'inhibition basé sur une région de l'ARN génomique du phage MS2 et détecté par la sonde spécifique dans le canal **IC** (Canal 2).

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

Le test a été validé sur l'instrument **ELITE InGenius**, un système intégré et automatisé d'extraction, d'amplification et de détection des acides nucléiques, et d'interprétation des résultats.

Les images suivantes illustrent brièvement le mécanisme d'activation et l'émission de la fluorescence de la sonde dotée de la technologie ELITE MGB®. Noter que la sonde n'est pas hydrolysée pendant le cycle d'amplification.



DESCRIPTION DU PRODUIT

Le produit « **Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit** » fournit les composants suivants :

- **RV PLUS PCR Mix**

Un mélange optimisé et stabilisé d'oligonucléotides et de réactifs pour la transcription inverse et l'amplification en temps réel, **pré-aliquoté dans quatre tubes à essai** (capuchon BLANC). Chaque tube contient **600 µl** de solution, un volume suffisant pour effectuer **24 tests** (traitement d'au moins 5 échantillons par session) en association avec le système **ELITE InGenius**.

Le mélange RV PLUS PCR Mix contient les amorces et la sonde spécifiques pour :

- la séquence du gène de la **protéine de matrice** du virus de la grippe A (FluA). La sonde **FluA** est marquée par le fluorophore AP639, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent,
- la séquence du gène de la **protéine de matrice** du virus de la grippe B (FluB). La sonde **FluB** est marquée par le fluorophore FAM, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent,
- la séquence du gène de la **protéine de matrice** du RSV. La sonde **RSV** est marquée par le fluorophore AP593, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent.
- la séquence du gène de la **protéine de fusion** du hMPV. La sonde **hMPV** est marquée par le fluorophore AP690, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent,
- la séquence de l'ARN génomique du **phage MS2** du contrôle interne (IC) exogène. La sonde **IC** est marquée par le fluorophore AP525, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent.

Le mélange RV PLUS PCR Mix contient également le tampon, du chlorure de magnésium, les nucléotides triphosphates, les stabilisateurs et l'enzyme Taq ADN polymérase avec activation thermique (Hot start).

- **RT EnzymeMix**

Un mélange optimisé et stabilisé d'enzymes pour la transcription inverse, **pré-aliquoté dans deux tubes à essai** (capuchon avec un insert NOIR). Chaque tube contient **20 µl** de solution, un volume suffisant pour effectuer **48 tests** en association avec le système **ELITE InGenius**.

Le produit permet d'effectuer **96 tests en association avec le système ELITE InGenius**, en incluant les contrôles.

MATÉRIEL FOURNI

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
RV PLUS PCR Mix	Mélange de réactifs pour la transcription inverse et l'amplification en temps réel Capuchon NATUREL	4 x 600 µl	-
RT EnzymeMix	Transcriptase inverse Capuchon avec un insert NOIR	2 x 20 µl	-

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.
- Agitateur de type vortex.
- Microcentrifugeuse de paillasse (12 000 - 14 000 tr/min).
- Micropipettes et cônes stériles avec filtre pour les aérosols ou à déplacement positif (2-20 µl, 5-50 µl, 50-200 µl, 200-1 000 µl).
- Tube Sarstedt de 2,0 ml à capuchon vissant, à collerette (Sarstedt Réf. 72.694.005).
- Eau de qualité biologie moléculaire.

AUTRES PRODUITS REQUIS

Les réactifs pour l'extraction de l'ARN des échantillons à analyser, le contrôle interne d'extraction et d'inhibition, le contrôle positif d'amplification et les consommables ne sont **pas** inclus dans ce produit.

Pour l'extraction automatique de l'ARN, la transcription inverse, l'amplification en temps réel et l'interprétation des résultats, l'instrument « **ELITE InGenius®** » (ELITechGroup S.p.A., réf. INT030) et les protocoles de test spécifiques suivants (ELITechGroup S.p.A.) sont requis :

- paramètres pour l'amplification du contrôle positif « **RV PLUS ELITE_PC** »,
- paramètres pour l'amplification du contrôle négatif « **RV PLUS ELITE_NC** »,
- paramètres pour les échantillons respiratoires prélevés à l'écouvillon à analyser « **RV PLUS ELITE_RsS_200_100** »,
- paramètres pour les échantillons de LBA à analyser « **RV PLUS ELITE_BAL_200_100** ».

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

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

À titre de matrice de contrôle interne d'extraction et d'inhibition, le produit générique « **CPE - Internal Control** » (ELITechGroup S.p.A., réf. CTRCPE) est requis. Il s'agit d'une solution stabilisée contenant des ADN plasmidiques et de l'ARN génomique de phage.

À titre de matrice de contrôle positif d'amplification, le produit spécifique « **Respiratory Viral PLUS - ELITE Positive Control** » (ELITechGroup S.p.A., réf. CTR160ING) est requis. Il s'agit d'une solution stabilisée contenant des ADN plasmidiques.

À titre de dispositif de prélèvement des échantillons respiratoires à l'écouvillon, le produit générique « **UTM® kit** » (COPAN Italia S.p.A., réf. 360C ou 305C) ou un dispositif équivalent, est requis.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

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

Avertissements et précautions d'ordre général

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

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

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

Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.

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

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

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

Lire attentivement toutes les instructions fournies avec le produit avant d'exécuter le test.

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

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

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

Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.

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

Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

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

Il est nécessaire de disposer de zones distinctes pour le test de biologie moléculaire et le test de culture microbiologique. Ne jamais manipuler la culture liquide ou solide dans la zone dédiée aux réactions d'extraction/d'amplification.

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 réactifs nécessaires à la transcription inverse et à l'amplification doivent être préparés de manière à pouvoir être utilisés au cours d'une seule session. 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 cassettes de PCR doivent être manipulées de sorte à réduire au maximum la diffusion des produits d'amplification dans l'environnement, afin d'éviter toute contamination des échantillons et des réactifs.

Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Le mélange **RV PLUS PCR Mix** doit être conservé à -20 °C dans l'obscurité.

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

RT EnzymeMix

Le produit **RT EnzymeMix** doit être conservé à -20 °C.

Le produit **RT EnzymeMix** ne doit pas être exposé à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes. Il peut être congelé et décongelé **dix fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risquent d'entraîner une réduction des performances du produit.

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

Ce produit doit être utilisé avec les échantillons cliniques suivants :

Échantillon respiratoire prélevé à l'écouvillon

Les échantillons respiratoires prélevés à l'écouvillon pour l'extraction des acides nucléiques doivent être collectés dans un milieu UTM conformément aux directives du laboratoire, transportés et conservés à température ambiante (+18/+25 °C) pendant 24 heures au maximum ou à +2/+8 °C pendant cinq jours au maximum ; sinon, ils doivent être congelés et conservés à -20 °C pendant un mois au maximum ou à -70 °C pour des périodes plus longues. Les 200 µl de milieu doivent être transférés dans le tube de sonication fourni avec le « ELITE InGenius SP 200 Consumable Set ».

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

Remarque : le pipetage des échantillons à partir du tube de prélèvement à l'écouvillon primaire dans le tube de sonication peut **entraîner une contamination**. Utiliser les pipettes appropriées et suivre toutes les recommandations indiquées à la section « Avertissements et précautions ».

Remarque : pour procéder à l'extraction de l'ARN de l'échantillon respiratoire prélevé à l'écouvillon à l'aide du système ELITE InGenius et du logiciel ELITE InGenius version 1.3 (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **RV PLUS ELITE RsS_200_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µl d'échantillon, l'ajout du **CPE** (contrôle interne) à 10 µl/extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 100 µl.

Lavage bronchoalvéolaire (LBA)

Les échantillons de lavage bronchoalvéolaire (LBA) doivent être collectés une solution physiologique stérile ou du PBS stérile conformément aux directives du laboratoire, transportés et conservés à température ambiante (+18/+25 °C) pendant 24 heures au maximum ou à +2/+8 °C pendant cinq jours au maximum ; sinon, ils doivent être congelés et conservés à -20 °C pendant un mois au maximum ou à -70 °C pour des périodes plus longues. Les 200 µl de milieu doivent être transférés dans le tube de sonication fourni avec le « ELITE InGenius SP 200 Consumable Set ».

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

Remarque : le pipetage des échantillons à partir du tube de prélèvement à l'écouvillon primaire dans le tube d'extraction peut **entraîner une contamination**. Utiliser les pipettes appropriées et suivre toutes les recommandations indiquées à la section « Avertissements et précautions ».

Remarque : pour procéder à l'extraction de l'ARN du LBA à l'aide du système **ELITE InGenius** et du logiciel **ELITE InGenius** version 1.3 (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **RV PLUS ELITE_BAL_200_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µl d'échantillon, l'ajout du **CPE** (contrôle interne) à 10 µl/extraction et l'élution des acides nucléiques dans 100 µl.

Substances interférentes

Des quantités d'ADN et/ou d'ARN génomique humain supérieures à 1 µgpar réaction risquent d'inhiber la réaction de transcription inverse et l'amplification en temps réel.

Les données disponibles en ce qui concerne l'inhibition provoquée par les médicaments et d'autres substances sont indiquées au paragraphe « Substances interférentes » de la section « Caractéristiques de performance ».

Contrôles d'amplification

Avant d'analyser un échantillon, il est absolument indispensable de générer et d'approuver les contrôles d'amplification pour le lot de réactifs d'amplification qui sera utilisé pendant le test :

- à titre de contrôle positif d'amplification, utiliser le réactif **Respiratory Viral PLUS – ELITE Positive Control** (non inclus dans ce kit) en association avec le protocole de test **RV PLUS ELITE_PC**,
- à titre de contrôle négatif d'amplification, utiliser de l'eau de qualité biologique moléculaire (non incluse dans ce kit) en association avec le protocole de test **RV PLUS ELITE_NC**.

Remarque : le système **ELITE InGenius** exige que les résultats des contrôles d'amplification soient approuvés et valides pour chaque lot de réactif d'amplification stocké dans sa base de données.

Les résultats des contrôles d'amplification, approuvés et stockés dans la base de données, expirent **au bout de 15 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser les contrôles positif et négatif en association avec le lot de réactifs d'amplification utilisé.

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

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

Contrôles de qualité

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

PROCÉDURE

La procédure d'utilisation du **Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit** avec le système **ELITE InGenius** se compose de trois étapes :

- Vérification de la préparation du système,
- Paramétrage de la session,
- Examen et exportation des résultats.

Vérification de la préparation du système

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

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

Les protocoles de test disponibles pour tester des échantillons à l'aide du produit **Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit** sont décrits dans le tableau ci-dessous.

Protocole de test pour le Respiratory Viral ELITE MGB® Kit			
Nom	Matrice	Rapport	Caractéristiques
RV PLUS ELITE_RsS_200_100	Échantillon respiratoire prélevé à l'écouvillon	Positif/ Négatif	Volume d'extraction initial : 200 µl Volume d'élution extrait : 100 µl Contrôle interne : 10 µl Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µl Volume initial de PCR de l'échantillon : 10 µl
RV PLUS ELITE_BAL_200_100	LBA	Positif/ Négatif	Volume d'extraction initial : 200 µl Volume d'élution extrait : 100 µl Contrôle interne : 10 µl Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µl Volume initial de PCR de l'échantillon : 10 µl

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

Paramétrage de la session

Le produit **Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit** peut être utilisé avec le système **ELITE InGenius** pour les opérations suivantes :

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

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

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

Avant de commencer la session, il est absolument indispensable de procéder comme suit :

1. Si nécessaire, décongeler les tubes à essai contenant les échantillons à analyser à température ambiante (+18/25 °C). Agiter au vortex à basse vitesse pendant 10 secondes, centrifuger les tubes pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver les tubes sur de la glace,
2. Décongeler les tubes à essai du mélange **RV PLUS PCR Mix** (capuchon BLANC) nécessaires à la session d'analyse pendant 30 minutes à température ambiante (+18/25 °C), en se rappelant que le contenu de chaque tube à essai est suffisant pour effectuer **24 tests**. Agiter au vortex à basse vitesse à trois reprises pendant 10 secondes, centrifuger les tubes pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver les tubes dans un bloc réfrigéré,

- Sortir les tubes de **RT EnzymeMix** (capuchon NOIR) nécessaires pour la session d'analyse, en se rappelant que le contenu de chaque tube est suffisant pour effectuer **48 tests**. Agiter délicatement les tubes, centrifuger pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver les tubes dans un bloc réfrigéré,

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

- Préparer un tube à capuchon vissant de 2 ml (Sarstedt réf. 72.694.005, non inclus dans le kit) pour le **mélange réactionnel complet** et le marquer de manière reconnaissable avec un marqueur permanent,
- Calculer les volumes des deux composants inclus dans le kit qui sont nécessaires à la préparation du **mélange réactionnel complet** sur la base du nombre d'échantillons à analyser, comme décrit dans le tableau suivant.

Remarque : pour calculer les volumes des deux composants à utiliser pour la préparation du **mélange réactionnel complet**, il est nécessaire de définir le nombre d'échantillons (N) à tester au cours de la session d'analyse et de suivre le tableau ci-dessous.

Nombre d'échantillons (N)	RV PLUS PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{l}$
$6 \leq N \leq 12$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{l}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{l}$

- Préparer le **mélange réactionnel complet** en ajoutant les volumes calculés des deux composants au tube de 2 ml dédié.
- Agiter **au vortex à basse vitesse** à trois reprises pendant 10 secondes, centrifuger pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver le tube sur de la glace.

Remarque : le mélange réactionnel complet doit être fraîchement préparé pour chaque session de travail et **ne peut pas** être réutilisé ou conservé.

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

A. Analyse intégrée

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

- Décongeler les tubes de CPE pour la session d'analyse. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
- Sélectionner « Exécuter l'analyse » (Perform Run) dans l'écran « Accueil » (Home).
- Vérifier que le « Volume d'extraction initial » (Extraction Input Volume) est de 200 μl et que le « Volume d'élution extrait » (Extracted Elute Volume) est de 100 μl .
- Pour chaque « Position » (Track) d'intérêt, renseigner le « ID échantillon » (Sample ID - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
- Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Test » (Assay) (par ex. RV PLUS ELITE_RsS_200_100).
- Vérifier que le « Protocole » (Protocol) affiché est : « Extraction + PCR » (Extract + PCR).
- Sélectionner « Tube de sonication » (Sonication Tube) à titre de position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Position de l'échantillon » (Sample Position). Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger le CPE et le **mélange réactionnel complet** sur le « Bloc inventaire » (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Zone inventaire » (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger les « Cassettes de PCR » (PCR Cassettes), les cartouches d'extraction « ELITE InGenius SP 200 », tous les consommables requis et les échantillons à extraire aux positions spécifiées à l'étape 7 en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.

11. Fermer le tiroir de l'instrument.
12. Appuyer sur « Démarrer » (Start) pour lancer l'analyse.

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

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

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

Remarque : au terme de l'analyse, le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être réutilisé ou conservé.

B. Analyse d'amplification

Pour paramétrer l'analyse d'amplification à partir d'ARN extrait, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Sélectionner « Exécuter l'analyse » (Perform Run) dans l'écran « Accueil » (Home).
2. Même si aucune extraction ne sera effectuée, vérifier que le « Volume d'extraction initial » (Extraction Input Volume) est de 200 µl et que le « Volume d'élution extrait » (Extracted Elute Volume) est de 100 µl.
3. Pour chaque « Position » (Track) d'intérêt, renseigner le SID en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
4. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Test » (Assay) (par ex. RV PLUS ELITE_RsS_200_100).
5. Sélectionner « PCR uniquement » (PCR Only) dans la colonne « Protocole » (Protocol).
6. Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Position échantillons » (Sample Position) est « Tube d'élution (ligne inférieure) » [Elution Tube (bottom row)]. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
7. Charger le **mélange réactionnel complet** sur le « Bloc inventaire » (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
8. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Zone inventaire » (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger les « Cassettes de PCR » (PCR Cassettes) et les échantillons d'acide nucléique extraits en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
10. Fermer le tiroir de l'instrument.
11. Appuyer sur « Démarrer » (Start) pour lancer l'analyse.

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

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

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

Remarque : au terme de l'analyse, le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être réutilisé ou conservé.

C. Analyse d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif

Pour paramétrer l'analyse d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler le tube de **RV PLUS Positive Control** pour la session d'analyse. Chaque tube permet d'effectuer 4 sessions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
2. Transférer au minimum 50 µl d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Tube d'élution » (Elution tube) inclus dans le « ELITE InGenius SP 200 Consumable Set ».
3. Sélectionner « Exécuter l'analyse » (Perform Run) dans l'écran « Accueil » (Home).
4. Dans la « Position » (Track) d'intérêt, sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Test » (Assay).
5. Même si aucune extraction ne sera réalisée, vérifier que le « Volume d'extraction initial » (Extraction Input Volume) est de 200 µl et que le « Volume d'élution extrait » (Extracted Elute Volume) est de 100 µl.
6. Pour le contrôle positif, sélectionner « RV PLUS ELITE_PC » dans la colonne « Test » (Assay) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **RV PLUS Positive Control**.
7. Pour le contrôle négatif, sélectionner « RV PLUS ELITE_NC » et renseigner le numéro de lot et la date de péremption de l'eau de qualité biologie moléculaire.
8. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger le **mélange réactionnel complet** sur le « Bloc inventaire » (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Zone Inventaire » (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
11. Charger les « Cassettes de PCR » (PCR Cassettes), le tube **RV PLUS Positive Control** et le tube de contrôle négatif en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
12. Fermer le tiroir de l'instrument.
13. Appuyer sur « Démarrer » (Start) pour lancer l'analyse.

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

Remarque : au terme de l'analyse, le contrôle positif restant doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 °C. Éviter tout déversement de l'échantillon extrait. Le contrôle négatif restant doit être mis au rebut.

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

Remarque : au terme de l'analyse, le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être réutilisé ou conservé.

Examen et approbation des résultats

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

Remarque : le système **ELITE InGenius** peut être connecté au « serveur d'informations de localisation » (LIS) par lequel il est possible d'envoyer les résultats de la session de travail au centre de données du laboratoire. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Le système **ELITE InGenius** génère les résultats à l'aide du produit **Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit** en exécutant la procédure suivante :

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

A. Validation des résultats du contrôle positif et du contrôle négatif d'amplification

Les signaux de fluorescence émis par les sondes des gènes pathogènes (canaux **FluA**, **FluB**, **RSV** et **hMPV**) dans la réaction d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans les protocoles de test « RV PLUS ELITE_PC » et « RV PLUS ELITE_NC ».

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

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

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

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

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

B. Validation des résultats de l'échantillon

Les signaux de fluorescence émis par les sondes des gènes pathogènes (canaux **FluA**, **FluB**, **RSV** et **hMPV**) et par la sonde du contrôle interne (canal **IC**) dans les réactions d'amplification de l'échantillon sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans les protocoles de test RV PLUS ELITE_RsS_200_100 et RV PLUS ELITE_BAL_200_100.

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

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

1) Contrôle positif	Statut
RV PLUS Positive Control	APPROUVÉ
2) Contrôle négatif	Statut
RV PLUS Negative Control	APPROUVÉ

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

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

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
Virus de la grippe A :ARN détecté (FluA:RNA detected).	L'ARN du virus la grippe A (FluA) a été détecté dans l'échantillon.
Virus de la grippe B :ARN détecté (FluB:RNA detected).	L'ARN du virus la grippe B (FluB) a été détecté dans l'échantillon.
RSV :ARN détecté (RSV:RNA detected).	L'ARN du RSV a été détecté dans l'échantillon.
hMPV :ARN détecté (hMPV:RNA detected).	L'ARN du hMPV a été détecté dans l'échantillon.
Virus de la grippe A :ARN non détecté ou inférieur à la LoD (FluA:RNA not detected or below LoD).	L'ARN du virus la grippe A (FluA) n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour cet agent pathogène ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Virus de la grippe B :ARN non détecté ou inférieur à la LoD (FluB:RNA not detected or below LoD).	L'ARN du virus la grippe B (FluB) n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour cet agent pathogène ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
RSV :ARN non détecté ou inférieur à la LoD (RSV:RNA not detected or below LoD).	L'ARN du RSV n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour cet agent pathogène ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
hMPV :ARN non détecté ou inférieur à la LoD (hMPV:RNA not detected or below LoD).	L'ARN du hMPV n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour cet agent pathogène ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Non valide-Tester à nouveau l'échantillon (Invalid-Retest Sample).	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du contrôle interne dû à une extraction incorrecte ou une contamination par des inhibiteurs. Le test doit être répété.

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

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

Les échantillons rapportés comme « Virus de la grippe A :ARN non détecté ou inférieur à LoD » (FluA:RNA not detected or below LoD), « Virus de la grippe B :ARN non détecté ou inférieur à LoD » (FluB:RNA not detected or below LoD), « RSV :ARN non détecté ou inférieur à LoD » (RSV:RNA not detected or below LoD), « hMPV :ARN non détecté ou inférieur à LoD » (hMPV:RNA not detected or below LoD), sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter l'ARN des cibles. Dans ce cas, il n'est pas possible d'exclure le fait que l'ARN des cibles soit présent à une concentration inférieure à la limite de détection du test (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

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

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

C. Exportation des résultats de l'échantillon

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

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

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

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

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Sensibilité analytique : Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit a été définie en association avec des échantillons respiratoires prélevés à l'écouvillon dans un milieu UTM, des échantillons de lavage bronchoalvéolaire (LBA) et le système ELITE InGenius.

La LoD a été définie en testant un panel d'échantillons respiratoires prélevés à l'écouvillon collectés dans un milieu UTM (COPAN Italia S.p.A.) et dopés avec un matériel de référence du virus de la grippe A (FluA), virus de la grippe B (FluB), virus respiratoire syncytial (RSV) et métapneumovirus humain (hMPV) (Qnostics et Vircell) dont le titre était connu. Six niveaux de dilution ont été préparés, en commençant à une concentration plus élevée que la valeur de LoD attendue. Chaque niveau de dilution a été traité en 12 réplicats sur le système ELITE InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR). La LoD a été estimée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 % par une analyse de régression des probits des données.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Limite de détection (copies/ml) pour des échantillons respiratoires prélevés à l'écouvillon avec le système ELITE InGenius			
Cible	LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
Grippe A	433	318	837
Grippe B	409	317	725
RSV	359	267	688
hMPV	333	288	496

La valeur de LoD calculée a été vérifiée en testant 20 réplicats d'échantillons respiratoires prélevés à l'écouvillon et d'échantillons de LBA dopés avec des matériels de référence du virus de la grippe A (FluA), virus de la grippe B (FluB), RSV et hMPV (Qnostics et Vircell) aux concentrations revendiquées. Les résultats obtenus étayent les concentrations revendiquées pour le virus de la grippe A (FluA), le virus de la grippe B (FluB), le RSV et le hMPV pour les échantillons respiratoires prélevés à l'écouvillon. Pour les échantillons de LBA, la LoD a été confirmée pour le virus de la grippe B (FluB), le RSV et le hMPV ; pour le virus de la grippe A (FluA), elle a été vérifiée à 500 copies/ml.

Efficacité de détection (inclusivité)

L'efficacité de détection de différentes souches ou isolats du virus de la grippe A (FluA), virus de la grippe B (FluB), RSV et hMPV du produit Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit a été évaluée par une analyse in silico des séquences disponibles dans la base de données de nucléotides EBI ENA. Les régions choisies pour l'hybridation des amorces et des sondes fluorescentes ont été vérifiées par rapport à un alignement des séquences pour le gène de matrice (FluA, FluB et RSV) et le gène de la nucléoprotéine (hMPV). Les régions d'hybridation montraient une conservation de séquence et une absence de mutations significatives, si bien que l'on peut s'attendre à une amplification efficace de tous les organismes analysés.

L'efficacité de détection de différentes souches ou isolats du virus de la grippe A (FluA), virus de la grippe B (FluB), RSV et hMPV a également été évaluée par l'analyse d'un panel de matériels certifiés testés à une faible concentration (environ 100 copies/réaction).

Des échantillons d'ARN génomique certifiés obtenus auprès de l'ATCC (États-Unis) et de Zeptomatrix (États-Unis) ont été dilués et analysés en triple en association avec le système ELITE InGenius en mode « PCR uniquement » (PCR Only).

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Inclusivité				
Echantillons	Fournisseur	Pos./Rép.	Ct moyen	Résultat
Grippe A H1N1	ATCC	3/3	33,65	Positif
Grippe A H3N2	ATCC	3/3	33,49	Positif
Grippe A H1N1 (2009)	Zeptomatrix	3/3	30,78	Positif
Grippe B Florida (Yamagata)	ATCC	3/3	35,92	Positif
Grippe B Wisconsin (Yamagata)	ATCC	3/3	36,22	Positif
Grippe B Victoria	Qnostics	3/3	31,07	Positif
RSVA2	ATCC	3/3	35,84	Positif
RSVA	Vircell	3/3	36,12	Positif
RSVB	Vircell	3/3	31,12	Positif
hMPVA	Zeptomatrix	3/3	33,39	Positif
hMPVB	Zeptomatrix	3/3	32,46	Positif

Tous les échantillons testés se sont révélés positifs pour l'agent pathogène correct par le Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit.

Marqueurs potentiellement interférents (réactivité croisée)

La réactivité croisée potentielle du test avec d'autres organismes non souhaitables a été évaluée par une comparaison *in silico* des séquences disponibles dans les bases de données de nucléotides.

Les régions choisies pour l'hybridation des amorces et des sondes fluorescentes ont été vérifiées par rapport à l'alignement des séquences d'autres organismes. L'analyse des régions d'hybridation a montré une absence d'homologies significatives et n'a indiqué aucune réactivité croisée potentielle.

L'absence de réactivité croisée avec d'autres organismes qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques de prélèvements respiratoires à l'écouvillon a également été vérifiée en testant un panel de matériels de référence certifiés.

Des échantillons d'ADN ou d'ARN génomique de différents marqueurs potentiellement interférents (ATCC, ZeptoMetrix) ont été analysés en trois réplicats en association avec le système ELITE InGenius en mode « PCR uniquement » (PCR Only). Les ADN et ARN de chaque organisme ont été ajoutés avec 500 ng par réaction d'ADN génomique humain (Promega) afin d'imiter l'échantillon clinique extrait.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Marqueurs potentiellement interférents : réactivité croisée		
Organismes	Souche	Résultat
<i>Aspergillus fumigatus</i>	ATCC, 118	Négatif, aucune réactivité croisée
<i>Candida albicans</i>	ATCC, 3147	Négatif, aucune réactivité croisée
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC, Rosenbach	Négatif, aucune réactivité croisée
<i>Escherichia coli</i>	ATCC, H10407	Négatif, aucune réactivité croisée
<i>Bordetella pertussis</i>	Tohama I	Négatif, aucune réactivité croisée
<i>Bordetella parapertussis</i>	12822	Négatif, aucune réactivité croisée
<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC, Rd	Négatif, aucune réactivité croisée
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC, R6	Négatif, aucune réactivité croisée
<i>Legionella pneumophila</i>	ATCC, Philadelphia-1	Négatif, aucune réactivité croisée
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	ATCC, FH	Négatif, aucune réactivité croisée
<i>Chlamydomydia pneumoniae</i>	ATCC, AR-39	Négatif, aucune réactivité croisée
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Isolat clinique	Négatif, aucune réactivité croisée
CMV	ATCC, AD-169	Négatif, aucune réactivité croisée
Échovirus 4	ATCC, Pesascek	Négatif, aucune réactivité croisée
ADV	ATCC, Adenoid 6	Négatif, aucune réactivité croisée
<i>P. jirovecii</i>	Isolat clinique	Négatif, aucune réactivité croisée
Coronavirus SARS	Zeptomatrix	Négatif, aucune réactivité croisée
Coronavirus OC43	Zeptomatrix, OC43	Négatif, aucune réactivité croisée
Coronavirus E229	Zeptomatrix, E229	Négatif, aucune réactivité croisée
SARS-CoV-2	Zeptomatrix	Négatif, aucune réactivité croisée
Rhinovirus 1A	Zeptomatrix, 1A	Négatif, aucune réactivité croisée
Virus parainfluenza 1	Zeptomatrix, Type 1	Négatif, aucune réactivité croisée
Virus parainfluenza 2	Zeptomatrix, Type 2	Négatif, aucune réactivité croisée
Virus parainfluenza 3	Zeptomatrix, Type 3	Négatif, aucune réactivité croisée
Coxsackievirus A9	ATCC, A9	Négatif, aucune réactivité croisée

Tous les échantillons testés se sont révélés positifs pour l'agent pathogène correct par le Respiratory Viral PLUS ELITE MGB Kit.

Marqueurs potentiellement interférents (interférence)

L'absence d'inhibition due à d'autres organismes non souhaitables présents dans des échantillons respiratoires a été vérifiée en testant un panel d'ADN et d'ARN génomique certifié de l'ATCC.

Des échantillons d'ADN et d'ARN génomique à concentration élevée ont été dopés avec de l'ADN du virus de la grippe A (FluA), virus de la grippe B (FluB), RSV et hMPV à faible concentration (environ 100 copies par réaction) et ont été analysés en triple pour chaque marqueur potentiellement interférent en association avec le système ELITE InGenius en mode « PCR uniquement » (PCR Only).

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Marqueurs potentiellement interférents : interférence		
Organismes	Souche	Résultat
Coronavirus SARS	Zeptomatrix	Positif, aucune inhibition
Coronavirus OC43	Zeptomatrix, OC43	Positif, aucune inhibition
Coronavirus E229	Zeptomatrix, E229	Positif, aucune inhibition
SARS-CoV-2	Zeptomatrix, USA-WA1/2020	Positif, aucune inhibition
Rhinovirus 1A	Zeptomatrix, 1A	Positif, aucune inhibition
Virus parainfluenza 1	Zeptomatrix, Type 1	Positif, aucune inhibition
Virus parainfluenza 2	Zeptomatrix, Type 2	Positif, aucune inhibition
Virus parainfluenza 3	Zeptomatrix, Type 3	Positif, aucune inhibition
Coxsackievirus A9	ATCC, A9	Positif, aucune inhibition

Tous les agents pathogènes d'intérêt ont été correctement détectés en présence des organismes potentiellement interférents répertoriés ci-dessus lorsqu'ils ont été testés à l'aide du Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit.

Substances interférentes

Un panel de substances potentiellement interférentes, à leurs concentrations pertinentes les plus élevées, a été testé avec le produit Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit. Les substances testées étaient la mucine, le sang total humain, l'antibiotique Azithromycine, le corticostéroïde Béclo-métasone, l'antihistaminique Ébastine et le mucolytique Chlorhydrate d'ambroxol.

Les substances ont été individuellement ajoutées à des échantillons respiratoires prélevés à l'écouvillon dopés avec les matériels de référence du virus de la grippe A (FluA), virus de la grippe B (FluB), RSV et hMPV à une concentration de 3x la LoD. Les échantillons ont été traités en 3 réplicats sur le système ELITE InGenius® en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Test des substances interférentes, % CV pour les cibles						
Substance	Concentration	Pos./Rép.	Grippe A	Grippe B	RSV	hMPV
Sang total	10 % v/v	3/3	2,56	1,92	1,14	3,88
Mucine	1 % p/v (10 mg/ml)	3/3	3,94	0,83	0,76	1,17
Azithromycine	0,2 µg/ml	3/3	2,93	1,29	2,17	1,31
Ambroxol	0,6 µg/ml	3/3	2,01	0,62	2,17	0,75
Béclo-métasone	64 ng/ml	3/3	3,85	1,36	2,22	1,46
Ébastine	0,4 µg/ml	3/3	3,96	0,89	3,20	2,92

Comme attendu, tous les échantillons se sont révélés positifs pour la cible d'intérêt. Le pourcentage % CV des valeurs Ct était inférieur à 4 %.

Répétabilité

La répétabilité des résultats obtenus à l'aide du produit Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit en association avec le système ELITE InGenius a été testée en analysant un panel d'échantillons respiratoires prélevés à l'écouvillon. Le panel incluait des échantillons dopés avec un matériel de référence du virus de la grippe A (FluA), virus de la grippe B (FluB), RSV et hMPV (Qnostics et Vircell) à une concentration d'environ 3x la LoD.

La répétabilité a été obtenue en analysant les échantillons du panel en trois réplicats, à raison de deux analyses par jour, en utilisant le même lot de produit. Trois lots de produit ont été utilisés sur trois jours différents avec le même instrument et le même opérateur. Les échantillons ont été traités sur le système ELITE InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR). Les valeurs Ct des cibles et du contrôle interne ont été utilisées pour calculer le % CV afin d'évaluer la répétabilité en tant qu'imprécision.

Un résumé des résultats est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Répétabilité inter-lots					
Échantillon	Pos./Rép.	Ct moyen	EC	% CV	% Positif
3X la LoD Virus de la grippe A (FluA)	18/18	33,22	0,59	1,79	100 %
3X la LoD Virus de la grippe B (FluB)	18/18	31,98	0,51	1,60	100 %
3X la LoD RSV	18/18	32,84	0,60	1,84	100 %
3X la LoD hMPV	18/18	32,38	0,69	2,12	100 %
IC	72/72	29,27	0,34	1,17	100 %

Dans le test de répétabilité, l'analyse détectait les cibles comme attendu et montrait un faible % CV des valeurs Ct qui n'excédait pas 3 %.

Reproductibilité

La reproductibilité des résultats obtenus à l'aide du produit Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit en association avec le système ELITE InGenius a été testée en analysant un panel d'échantillons respiratoires prélevés à l'écouvillon. Le panel incluait des échantillons dopés avec un matériel de référence du virus de la grippe A (FluA), virus de la grippe B (FluB), RSV et hMPV (Qnostics et Vircell) à une concentration d'environ 3x la LoD.

La reproductibilité a été obtenue en analysant les échantillons du panel en trois réplicats, à raison de deux analyses par jour. Trois lots de produit différents ont été utilisés sur trois jours différents, sur trois instruments différents et par trois opérateurs différents. Les échantillons ont été traités sur le système ELITE InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR). Les valeurs Ct des cibles et du contrôle interne ont été utilisées pour calculer le % CV afin d'évaluer la reproductibilité en tant qu'imprécision.

Un résumé des résultats est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Reproductibilité					
Echantillon	Pos./Rép.	Ct moyen	EC	% CV	% Positif
3X la LoD Virus de la grippe A (FluA)	18/18	32,49	1,06	3,26	100 %
3X la LoD Virus de la grippe B (FluB)	18/18	31,64	0,56	1,76	100 %
3X la LoD RSV	18/18	32,11	0,31	0,95	100 %
3X la LoD hMPV	17/17	33,64	1,06	3,16	100 %
IC	72/72	28,83	0,39	1,36	100 %

Dans le test de reproductibilité, l'analyse détectait les cibles comme attendu et montrait un faible % CV des valeurs Ct qui n'excédait pas 4 %.

Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en analysant des échantillons cliniques de prélèvements respiratoires à l'écouvillon collectés dans un milieu UTM (COPAN Italia S.p.A.) et des échantillons de LBA certifiés négatifs par un test portant le marquage CE DIV.

Les échantillons ont été analysés à l'aide du test en association avec le système ELITE InGenius. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	Positif	Négatif	Spécificité diagnostique
Prélèvement respiratoire à l'écouvillon collecté dans un milieu UTM négatif	41	0	41	100 %
LBA négatif	40	0	40	100 %

Sensibilité diagnostique : confirmation des échantillons positifs

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en analysant des échantillons cliniques de prélèvements respiratoires à l'écouvillon collectés dans un milieu UTM (COPAN Italia S.p.A.) et des échantillons de LBA certifiés positifs par un test portant le marquage CE DIV pour le virus de la grippe A (FluA), virus de la grippe B (FluB), RSV ou hMPV.

La sensibilité diagnostique du test a été évaluée en analysant des échantillons cliniques positifs et des échantillons cliniques négatifs dopés avec un matériel certifié du virus de la grippe A (FluA), virus de la grippe B (FluB), RSV et hMPV. Des échantillons artificiels pour le virus de la grippe A (FluA), virus de la grippe B (FluB), RSV et hMPV ont été dopés à une concentration de 3x, 5x et 10x la LoD.

Les échantillons ont été analysés à l'aide du test en association avec le système ELITE InGenius. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons respiratoires prélevés à l'écouvillon collectés dans un milieu UTM	N	Positif	Négatif	Sensibilité diagnostique
Positif pour le virus de la grippe A (FluA)	31	28	3	95,6 %
Dopé avec le virus de la grippe A (FluA)	59	58	1	
Positif pour le virus de la grippe B (FluB)	30	30	0	100 %
Dopé avec le virus de la grippe B (FluB)	29	29	0	
Positif pour le RSV	34	33	1	98,4 %
Dopé avec le RSV	30	30	0	
Positif pour le hMPV	17	17	0	100 %
Dopé avec le hMPV	27	27	0	

Échantillons de LBA	N	Positif	Négatif	Sensibilité diagnostique
Positif pour le virus de la grippe A (FluA)	28	28	0	96,5 %
Dopé avec le virus de la grippe A (FluA)	29	27	2	
Positif pour le virus de la grippe B (FluB)	13	12	1	97,7 %
Dopé avec le virus de la grippe B (FluB)	30	30	0	
Positif pour le RSV	18	18	0	100 %
Dopé avec le RSV	30	30	0	
Positif pour le hMPV	3	3	0	100 %
Dopé avec le hMPV	28	28	0	

Remarque : les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec la matrice et l'instrument sont présentés dans la Fiche technique du produit « Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit », FTP 160ING.

BIBLIOGRAPHIE

- W. Zhang et al. (1991) *J. Virol. Methods* 33: 165 - 189
J. Stockton et al. (1998) *J. Clin. Microbiol.* 36: 2990 - 2995
E. J. Kuypers et al. (2005) *J. Clin. Virology* 33: 299 -305
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30

LIMITES DE LA PROCÉDURE

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

Utiliser ce produit uniquement avec des échantillons cliniques de prélèvements respiratoires à l'écouvillon et de LBA.

Il n'existe actuellement aucune donnée disponible en ce qui concerne la performance du produit avec les échantillons cliniques suivants : expectorations, gargarismes, aspirats nasopharyngés, surnageant de culture cellulaire.

Ne pas utiliser ce produit avec une quantité d'ADN ou d'ARN extrait supérieure à 1 µg : une grande quantité d'acides nucléiques peut inhiber les réactions de transcription inverse et d'amplification, et risque de générer des résultats non valides.

Les résultats obtenus avec ce produit dépendent de l'identification, du prélèvement, du transport, de la conservation et du traitement corrects 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 les produits pour l'extraction des acides nucléiques.

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

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

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

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

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

Un résultat négatif obtenu avec ce produit signifie que l'ARN cible n'est pas détecté dans l'ARN extrait à partir de l'échantillon. Il n'est toutefois pas possible d'exclure le fait que l'ARN cible présente un titre plus faible que la limite de détection du produit (voir la section « Caractéristiques de performance »). Dans ce cas, le résultat pourrait être un faux-négatif.

En cas de co-infections, la sensibilité d'une cible peut être affectée par l'amplification d'une seconde cible.

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, une délétion ou une insertion au sein de la région de l'ARN cible couverte par les amorces et les sondes du produit peuvent affecter la détection de l'ARN cible.

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

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

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Réaction du contrôle positif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet et du contrôle positif. Vérifier le volume du mélange réactionnel complet et du contrôle positif.
Erreur de préparation du mélange réactionnel complet.	Vérifier le volume des réactifs utilisés pendant la préparation du mélange réactionnel complet.
Dégradation du mélange réactionnel complet ou de ses composants.	Ne pas utiliser le mélange réactionnel complet pour plus d'une seule session (3 heures dans la « Zone inventaire » [Inventory Area]). Ne pas laisser le mélange réactionnel complet à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.
Dégradation du contrôle positif.	Utiliser une nouvelle aliquote du contrôle positif.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Réaction du contrôle négatif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet et du contrôle négatif. Vérifier le volume du mélange réactionnel complet et du contrôle négatif.
Contamination du mélange réactionnel complet ou de ses composants.	Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.
Contamination du contrôle négatif	Utiliser une nouvelle aliquote d'eau de qualité biologie moléculaire.
Contamination de la zone d'extraction, des portoirs ou du « Bloc inventaire » (Inventory Block).	Nettoyer les surfaces avec des détergents aqueux, laver les blouses de laboratoire, remplacer les tubes à essai et les cônes utilisés.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Taux anormalement élevé de résultats positifs dans la même session (réactions avec des valeurs Ct tardives similaires)	
Causes possibles	Solutions
Contamination inter-échantillons pendant les étapes pré-analytiques.	Éviter tout contact entre la micropipette et la paroi des tubes. Nettoyer la micropipette à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 3 % 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 du système ELITE InGenius. 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 à 3 % fraîchement préparée ou d'un agent de nettoyage de l'ADN/ARN. Effectuer un cycle de décontamination U.V. Utiliser un nouveau tube de PCR Mix.

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de la session.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet et de l'échantillon. Vérifier le volume du mélange réactionnel complet et de l'échantillon.
Erreur de préparation du mélange réactionnel complet.	Vérifier le volume des réactifs utilisés pendant la préparation du mélange réactionnel complet.
Dégradation du mélange réactionnel complet ou de ses composants.	Ne pas utiliser le mélange réactionnel complet pour plus d'une seule session. Ne pas laisser le mélange réactionnel complet 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 du contrôle interne.	Utiliser de nouvelles aliquotes du contrôle interne.
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification avec une dilution à 1:2 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « PCR uniquement » (PCR Only). Répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon primaire dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « Extraction + PCR » (Extract + PCR).
Dégradation de l'échantillon.	Répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon primaire dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « Extraction + PCR » (Extract + PCR). Utiliser une nouvelle aliquote de l'échantillon.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

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

Erreur TH	
Causes possibles	Solutions
Concentration de la cible trop élevée dans l'échantillon.	En cas d'observation d'une amplification significative sur la courbe de PCR avec une valeur de référence négative : - répéter l'amplification avec une dilution à 1:10 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « PCR uniquement » (PCR Only) ou - répéter l'extraction avec une dilution à 1:10 de l'échantillon primaire dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

LÉGENDE DES SYMBOLES



Numéro de référence.



Limite supérieure de température.



Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.



Conforme aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*.



Contenu suffisant pour « N » tests.



Consulter le mode d'emploi.



Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

Ce produit contient des réactifs fabriqués par Life Technologies Corporation et commercialisés selon des accords de licence entre ELITechGroup S.p.A. et ses filiales et Life Technologies Corporation. 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, Life Technologies Corporation, 5781 Van Allen Way, Carlsbad, CA 92008. Téléphone : +1(760)603-7200. Fax : +1(760)602-6500. Email : outlicensing@thermofisher.com.

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

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

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

UTM® est une marque déposée de COPAN Italia S.p.A.



This document is a simplified version of the official instruction for use. Please refer to the complete document before use: www.elitechgroup.com
 This document is available only in English.

A. Intended use

The «**Respiratory Viral PLUS ELITE MGB® Kit**» product is part of a qualitative multiplex nucleic acids reverse transcription and amplification assay for the detection and identification of the RNA of **Influenza A Virus (FluA)**, **Influenza B Virus (FluB)**, **Respiratory Syncytial Virus (RSV)** and **human Metapneumovirus (hMPV)** in clinical samples.

The assay is validated in association with ELITE InGenius® system and with Respiratory swabs and Broncho-Alveolar Lavage (BAL) samples.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of respiratory infections, in conjunction with the patient's clinical data and other laboratory test results.

B. Amplified sequence

Target	Gene	Fluorophore
FluA	Matrix protein gene sequence of FluA	AP639
FluB	Matrix protein gene sequence of FluB	FAM
RSV	Matrix protein gene sequence of RSV	AP593
hMPV	Fusion protein gene sequence of hMPV	AP680
IC	genomic RNA of MS2 phage	AP525

C. Validated matrix

› **Respiratory Swab**

› **BAL**

D. Kit content

RV PLUS PCR Mix	RT EnzymeMix
 X 4	 X 2
4 tubes of 600 µL 96 reactions per kit 5 freeze-thaw cycles per tube	2 tubes of 20 µL 96 reactions per kit 10 freeze-thaw cycles per tube
› Maximum shelf-life: 18 months › Storage temperature: - 20°C	› Maximum shelf-life: 18 months › Storage temperature: - 20°C

E. Material required not provided in the kit

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> › ELITE InGenius instrument: INT030 › ELITE InGenius SP 200 extraction cartridges: INT032SP200 › ELITE InGenius PCR Cassette amplification cartridges: INT035PCR › ELITE InGenius SP 200 Consumable Set consumables for extraction: INT032CS | <ul style="list-style-type: none"> › Respiratory Viral PLUS - ELITE Positive Control: CTR160ING › CPE – Internal Control: CTCRCPE › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000 › 300 µL Filter Tips Axygen: TF-350-L-R-S › 2 ml tube Sarstedt: 72.694.005 › Copan UTM® kit: 360C or 305C |
|---|---|

F. ELITE InGenius protocol

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> › Sample volume 200 µL › CPE Internal Control volume 10 µL › Total eluate volume 100 µL › PCR eluate input volume 10 µL › RV PLUS PCR Mix volume 20 µL | <ul style="list-style-type: none"> › Unit of qualitative result cp/mL › Frequency of controls 15 days |
|--|---|

G. Performance

Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity
Respiratory Swab	FLUA: 433 cp/mL FLUB: 409 cp/mL	98.5% 252/257*	100% 41/41*
BAL	RSV: 359 cp/mL hMPV: 333 cp/mL	98.6% 176/179*	100% 40/40*

*confirmed samples/ tested samples

H. Master Mix Preparation preparation

Reagent	1 Test	Samples N.	Total reactions
RV PLUS PCR Mix	20 µL	1 to 5	N + 1 rxn
RT Enzyme Mix	0.3 µL	6 to 12	N + 2 rxn

I. Procedures

The user is guided step-by-step by the ELITE InGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

Before analysis

1. Switch on ELITE InGenius Identification with username and password Select the mode "Closed"	2. Verify controls: RV PLUS pos. and neg. controls in the "Control menu" <i>NB:</i> Both have been run, approved and not expired	3. Thaw the CoV-2 PCR Mix, RT EnzymeMix tubes and the CPE Internal Control tubes Vortex gently Spin down 5 sec
---	---	--

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", eluate: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay protocol" of interest	5. Select the sample position: Extraction tube	6. Load the complete mix and the Internal Control in the inventory block
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip and Extraction tube racks	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 2 - PCR only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the protocol "PCR only" and set the sample position "Extra tube"	6. Load the extracted nucleic acid tubes in the Elution tubes rack
7. Load the PCR cassette rack Load the PCR Mix in the inventory block	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the protocol "Extraction Only" and set the sample position: Secondary tube	6. Load the Internal Control in the inventory block
7. Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette and Extraction tube	8. Close the door Start the run	9. Archive the eluate sample