

NOTICE of CHANGE dated 03/06/2024

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«PVB19 ELITe MGB[®] Kit»

Ref. RTS070PLD

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







- *Update for the use of the product in association with «ELITe BeGenius[®]» instrument (REF INT040) and amniotic fluid matrix.*

Update of PERFORMANCE CHARACTERISTICS (pag.16):

- *Linear measuring range*
 - *Conversion factor to International Units*
- *Addition of UDI information.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

	LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT
	THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT
	CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT
	LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT
	A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT
	DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT



Parvovirus B19 ELITE MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

UDI 08033891483623

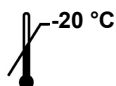


TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	page 1
PRINCIPE DU TEST	page 2
DESCRIPTION DU PRODUIT	page 2
MATÉRIEL FOURNI	page 2
MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	page 2
AUTRES PRODUITS REQUIS	page 3
AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	page 4
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES POUR LES ELITE InGenius et ELITE BeGenius	page 5
PROCÉDURE AVEC LE ELITE InGenius	page 8
PROCÉDURE AVEC LE ELITE BeGenius	page 14
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC LES ELITE InGenius et ELITE BeGenius	page 18
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES POUR D'AUTRES SYSTÈMES	page 25
PROCÉDURES POUR D'AUTRES SYSTÈMES	page 27
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC D'AUTRES SYSTÈMES	page 36
BIBLIOGRAPHIE	page 43
LIMITES DE LA PROCÉDURE	page 44
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	page 45
LÉGENDE DES SYMBOLES	page 48
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	page 49
ANNEXE : GUIDE DE DÉMARRAGE RAPIDE	page A

APPLICATION

Le produit **Parvovirus B19 ELITE MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test qualitatif et quantitatif de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la **détection et la quantification de l'ADN du parvovirus humain B19 (PVB19)**, génotypes 1, 2, 3a et 3b, dans des échantillons d'ADN extraits d'échantillons cliniques.

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

Le test est également validé en association avec le **7300 Real-Time PCR System** et le **7500 Real-Time PCR Instrument**, en utilisant des échantillons humains de sang total (périphérique et de moelle osseuse) prélevé sur EDTA et de plasma prélevé sur EDTA.

Parvovirus B19 ELITE MGB® Kit réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

Ce produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic et à la surveillance des infections à parvovirus B19. Les résultats doivent être interprétés en association avec l'ensemble des observations cliniques pertinentes et des résultats du laboratoire.

PRINCIPE DU TEST

Le test est une PCR quantitative en temps réel qui détecte l'ADN du parvovirus isolé à partir d'échantillons et amplifié à l'aide du réactif du test, le **PVB19 Q PCR Mix**, qui contient des amorces et des sondes dotées de la technologie ELITE MGB.

Les sondes ELITE MGB sont activées lorsqu'elles s'hybrident aux produits de PCR associés. Les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** surveillent l'augmentation de la fluorescence et calculent le cycle seuil (Ct) ainsi que les températures de fusion (Tm). La quantité d'ADN du **PVB19** est calculée en se basant sur une courbe d'étalonnage enregistrée.

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

DESCRIPTION DU PRODUIT

Le **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** fournit le réactif du test, le **PVB19 Q PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amorces et les sondes spécifiques pour :

- la région **VP1** du PVB19, détectée dans le Canal **PVB19** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée par le colorant FAM,
- le Contrôle interne (IC), spécifique pour la région du **promoteur et de l'UTR 5'** du gène de la **bêta-globine humaine**, détecté dans le Canal **IC** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée par le colorant AquaPhluor® 525 (AP525).

Le **PVB19 Q PCR Mix** contient également un tampon, du chlorure de magnésium, des nucléotides triphosphates, le fluorophore AP593 (analogue de ROX ou Cy5) en tant que référence passive pour la normalisation de la fluorescence, l'enzyme uracile N-glycosidase (UNG) pour inactiver toute contamination par le produit d'amplification et l'enzyme ADN polymérase « hot start » (démarrage à chaud).

Le produit **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **96 tests** sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** (**24 tests avec chaque tube**) et **100 tests** sur les **autres systèmes** (**25 tests avec chaque tube**), en utilisant 20 µL par réaction.

Le **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** peut également être utilisé en association avec d'autres instruments équivalents.

MATÉRIEL FOURNI

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
PVB19 Q - PCR Mix réf. RTS070PLD	Mélange de réactifs pour la PCR en temps réel dans un tube doté d'un capuchon transparent	4 x 540 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 (~13 000 tr/min).
- Micropipettes et cônes stériles avec filtre pour les aérosols ou cônes stériles à déplacement positif 0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tubes stériles à capuchon vissant de 2,0 mL (Sarstedt, Allemagne, réf. 72.694.005).

Parvovirus B19 ELiTe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

- Eau de qualité biologie moléculaire.
- Thermostat programmable avec système de détection optique de fluorescence 7300 Real Time PCR System ou 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument étalonné selon les instructions du fabricant.

AUTRES PRODUITS REQUIS

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

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

Instruments et logiciels	Produits et réactifs
ELiTe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA réf. INT030) ELiTe InGenius Software version 1.3.0.17 (ou versions ultérieures) PVB19 ELiTe_STD , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs PVB19 ELiTe_PC , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif PVB19 ELiTe_NC , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif PVB19 ELiTe_WB_200_100 , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total PVB19 ELiTe_AF_200_100 , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de liquide amniotique	ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, réf. INT032SP200) ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, réf. INT032CS) ELiTe InGenius PCR Cassette (EG SpA, réf. INT035PCR) ELiTe InGenius Waste Box (EG SpA, réf. F2102-000) 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., réf. TF-350-L-R-S), avec le ELiTe InGenius uniquement 1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Suisse, réf. 30180118), avec le ELiTe BeGenius uniquement CPE – Internal Control (EG SpA, réf. CTRCPE) Parvovirus B19 ELiTe Standard (EG SpA, réf. STD070PLD) Parvovirus B19 – ELiTe Positive Control (EG SpA, réf. CTR070PLD)
ELiTe BeGenius (EG SpA réf. INT040) ELiTe BeGenius Software version 2.1.0. (ou versions ultérieures) PVB19 ELiTe_Be_STD , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs PVB19 ELiTe_Be_PC , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif PVB19 ELiTe_Be_NC , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif PVB19 ELiTe_Be_WB_200_100 , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total PVB19 ELiTe_Be_AF_200_100 , Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de liquide amniotique	
7300 Real-Time PCR System (ThermoFisher Scientific, réf. 4351101) QIASymphony® SP/AS (QIAGEN GmbH, Réf. 9001297, 9001301) NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux SA, Réf. 200111) ELiTe GALAXY (EG SpA., réf. INT020) ELiTe STAR (EG SpA, réf. INT010)	MicroAmp™ Optical 96-Well Reaction Plate (LifeTechnologies, réf. N8010560) CPE – Internal Control (ELITechGroup SpA., réf. CTRCPE) Parvovirus B19 ELiTe Standard (EG SpA, réf. STD070PLD) Parvovirus B19 – ELiTe Positive Control (EG SpA, réf. CTR070PLD) QIASymphony® Midi kit (QIAGEN GmbH, Réf. 931236) NucliSENS® easyMAG® Reagents (bioMérieux SA, Réf. 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135), ELiTe GALAXY 300 Extraction Kit (EG SpA., réf. INT021EX) InviMag Universal Kit/IG (INVITEK, réf. 2450120100).

Parvovirus B19 ELiTe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

Instruments et logiciels	Produits et réactifs
7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument (ThermoFisher Scientific, réf. 4406985) QIASymphony® SP/AS (QIAGEN GmbH, Réf. 9001297, 9001301) NucliSENS® easyMAG® (bioMérieux SA, Réf. 200111) ELiTe GALAXY (EG SpA., réf. INT020) ELiTe STAR (EG SpA, réf. INT010)	« MicroAmp™ Fast Optical 96-Well Reaction Plate » with Barcode, 0.1 mL (Life Technologies, réf. 4346906) CPE – Internal Control (ELITechGroup SpA., réf. CTRCPE) Parvovirus B19 ELiTe Standard (EG SpA, réf. STD070PLD) Parvovirus B19 – ELiTe Positive Control (EG SpA, réf. CTR070PLD) QIASymphony® Midi kit (QIAGEN GmbH, Réf. 931236) NucliSENS® easyMAG® Reagents (bioMérieux SA, Réf. 280130, 280131, 280132, 280133, 280134, 280135), ELiTe GALAXY 300 Extraction Kit (EG SpA., réf. INT021EX) InviMag Universal Kit/IG (INVITEK, réf. 2450120100).

Un facteur de conversion (Fc) permet d'exprimer les résultats de l'analyse quantitative en unités internationales (UI) de PVB19 du « 3^e étalon international de l'OMS pour les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN) de l'ADN du parvovirus B19 » (NIBSC, réf. 12/208, Royaume-Uni).

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

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

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

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

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

Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.

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

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

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

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

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

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

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

Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.

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

Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

Lorsque la session d'amplification est paramétrée manuellement, il est nécessaire de disposer de zones distinctes pour l'extraction/la préparation des réactions d'amplification et pour l'amplification/la détection des produits d'amplification. Ne jamais introduire un produit d'amplification dans la zone réservée à l'extraction/la préparation des réactions d'amplification.

Lorsque la session d'amplification est paramétrée manuellement, il est nécessaire de disposer de blouses de laboratoire, de gants et d'outils utilisés exclusivement pour l'extraction/la préparation des réactions d'amplification et pour l'amplification/la détection des produits d'amplification.

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

Parvovirus B19 ELITe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

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 réduire la dispersion dans l'environnement afin d'éviter tout risque de contamination.

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

Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Composant	Température de stockage	Utilisation après la première ouverture	Cycles de congélation/décongélation	Stabilité à bord de l'instrument (ELITe InGenius et ELITe BeGenius)
PVB19 Q PCR Mix	-20 °C ou température plus basse (à l'abri de la lumière)	un mois	jusqu'à cinq	jusqu'à cinq sessions d'analyse distinctes* de trois heures chacune ou jusqu'à 7 heures consécutives (2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse)

* avec congélation intermédiaire

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES pour les ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Échantillons

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

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Sang total	EDTA	≤ 24 heures	≤ 3 jours	≤ 30 jours	≤ 30 jours
Liquide amniotique	collecté sans conservateurs	≤ 4 heures	≤ 4 heures	≤ 30 jours	≤ 30 jours

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

Utiliser les Assay Protocols (Protocoles de test) 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.

Parvovirus B19 ELITe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

Protocoles de test pour le Parvovirus B19 ELITe MGB Kit					
Échantillon	Instrument	Transfert de l'échantillon	Nom du Assay Protocol (Protocole de test)	Rapport	Caractéristiques
Sang total	ELITe InGenius	Non requis	PVB19 ELITe_WB_200_100	copies/ml ou UI/ml	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élué de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITe BeGenius	Non requis	PVB19 ELITe_Be_WB_200_100	copies/ml ou UI/ml	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élué de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
Liquide amniotique	ELITe InGenius	requis, dans un tube d'extraction	PVB19 ELITe_AF_200_100	copies/mL ou UI/mL	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élué de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITe BeGenius	requis, dans un tube Sarstedt de 2 mL	PVB19 ELITe_Be_AF_200_100	copies/mL ou UI/mL	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élué de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL

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

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

Remarque : le volume de l'échantillon contenu dans un tube primaire varie selon le type de tube chargé. Se reporter au mode d'emploi du kit d'extraction ou au manuel des **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** pour obtenir de plus amples informations sur le paramétrage et l'exécution de la procédure d'extraction.

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

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

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 **Parvovirus B19 ELiTe Standard** (non inclus dans ce kit) avec les Assay Protocols (Protocoles de test) **PVB19 ELiTe_STD** ou **PVB19 ELiTe_Be_STD**.

Remarque : les concentrations des étalons Q – PCR Standard sont exprimées en copies/réaction (10^5 copies/réaction, 10^4 copies/réaction, 10^3 copies/réaction, 10^2 copies/réaction).

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 **Parvovirus B19 - ELiTe Positive Control** (non inclus dans ce kit) avec les Assay Protocols (Protocoles de test) **PVB19 ELiTe_PC** ou **PVB19 ELiTe_Be_PC**,
- Pour le Contrôle négatif, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) avec les Assay Protocols (Protocoles de test) **PVB19 ELiTe_NC** ou **PVB19 ELiTe_Be_NC**.

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

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

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

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

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

Contrôles de qualité

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

PROCÉDURE AVEC LE ELiTe InGenius

La procédure d'utilisation du **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** avec le **ELiTe InGenius** comporte trois étapes :

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

ÉTAPE 1 – Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre le **ELiTe InGenius** en marche et se connecter en mode « **CLOSED** » (FERMÉ), dans le menu « Calibration » (Étalonnage) de la page Home (Accueil), vérifier que les calibrateurs (**PVB19 Q - PCR Standard**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PVB19 PCR Mix** à utiliser. Si aucun calibrateur valide n'est disponible pour le lot de **PVB19 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 (**PVB19 - Positive Control**, **PVB19 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 **PVB19 PCR Mix**, analyser les contrôles de PCR comme décrit dans les sections suivantes,
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et l'utilisation des Assay Protocols (Protocoles de test) fournis par EG SpA (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).

Si le Assay Protocol (Protocole de test) d'intérêt n'est pas chargé dans le système, contacter le service clientèle ELiTechGroup local.

Des protocoles d'analyse qualitative sont disponibles sur demande.

ÉTAPE 2 – Paramétrage de la session d'analyse

Le **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELiTe InGenius** pour les opérations suivantes :

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

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

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

Avant de paramétrer une analyse :

Décongeler les tubes de **PVB19 Q PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer **24 tests** dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

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

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

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Si requis, transférer 200 µL d'échantillon 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'éluion contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 100 µL.
4	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
5	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
6	Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).
7	Sélectionner la position de chargement de l'échantillon en tant que « Primary tube » (Tube primaire) ou « Extraction Tube » (Tube d'extraction) dans la colonne « Sample Position » (Position de l'échantillon). Vérifier que le « Dilution factor » (Facteur de dilution) est « 1 ».	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'éluion [ligne du bas]). Vérifier que le « Dilution factor » (Facteur de dilution) est « 1 ».
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9	Charger le CPE et le PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du CPE et du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	Charger le PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR), les cartouches d'extraction ELiTe InGenius SP 200, et tous les consommables requis et échantillons à extraire.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes d'éluion avec les échantillons extraits.
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
15	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
16	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

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

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

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

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

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

Remarque : les étalons **PVB19 Q-PCR Standard** peuvent être utilisés pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 2 heures chacune.

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

Remarque : le **PVB19 Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

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

ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

Le **ELiTe InGenius** surveille les signaux de fluorescence des cibles et du contrôle interne pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du 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.

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

Le **ELiTe InGenius** génère les résultats à l'aide du **PVB19 ELiTe MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

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

A. Validation de la courbe d'étalonnage

Le **ELiTe InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible des réactions des calibrateurs avec les paramètres du Assay Protocol (Protocole de test) **PVB19 ELiTe STD**. Les valeurs Ct vers la concentration génèrent la courbe d'étalonnage.

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

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

Remarque : si la courbe d'étalonnage ne répond pas aux critères d'acceptation, le message « Failed » (Échec) s'affiche dans l'écran « Calibration » (Étalonnage). Dans ce cas, les résultats ne peuvent pas être approuvés et les réactions d'amplification 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.

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

Le **ELiTe InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible des réactions du Contrôle positif et du Contrôle négatif avec les paramètres des Assay Protocols (Protocoles de test) **PVB19 ELiTe_PC** et **PVB19 ELiTe_NC**. Les valeurs Ct résultantes sont converties en concentration et utilisées pour vérifier le système (lots de réactifs et instrument).

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

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

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

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

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

C. Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELiTe InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible (canal **PVB19**) et le Contrôle interne (canal **IC**) avec les paramètres de Assay Protocol (Protocole de test) **PVB19 ELiTe_WB_200_100** et **PVB19 ELiTe_AF_200_100**. Les valeurs Ct des cibles résultantes sont converties en concentration.

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

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

1) Courbe d'étalonnage	Statut
PVB19 Q-PCR Standard	APPROUVÉ
2) Contrôle positif	Statut
PVB19 Positive Control	APPROUVÉ
3) Contrôle négatif	Statut
PVB19 Negative Control	APPROUVÉ

Les résultats de l'échantillon sont automatiquement interprétés par le **ELiTe InGenius Software** en utilisant les paramètres du Assay Protocol (Protocole de test).

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

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

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
PVB19: DNA Detected, quantity equal to XXX copies/mL or IU/mL (PVB19 : ADN détecté, quantité égale à « XXX » copies/mL ou UI/mL)	L'ADN du PVB19 a été détecté dans l'échantillon dans la plage de mesure du test ; sa concentration est celle affichée.
PVB19: DNA Detected, quantity below LLoQ copies/mL or IU/mL (PVB19 : ADN détecté, quantité inférieure à « LLoQ » copies/mL)	L'ADN du PVB19 a été détecté dans l'échantillon ; sa concentration est inférieure à la limite inférieure de quantification du test.
PVB19: DNA Detected, quantity beyond ULoQ copies/mL or IU/mL (PVB19 : ADN détecté, quantité supérieure à « ULoQ » copies/mL)	L'ADN du PVB19 a été détecté dans l'échantillon ; sa concentration est supérieure à la limite supérieure de quantification du test.
PVB19: DNA Not Detected or below LoD copies/mL or UI/mL (PVB19 : ADN non détecté ou inférieur à « LoD » copies/mL)	L'ADN du PVB19 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN cible ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Invalid - Retest Sample (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon).	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Contrôle Interne (en raison, par exemple, d'une extraction incorrecte ou d'un transfert d'inhibiteurs). Le test doit être répété.

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

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

Les échantillons rapportés comme « PVB19: DNA Not detected or below the "LoD" copies/mL » (PVB19 : ADN non détecté ou inférieur à « LoD » copies/mL) sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter l'ADN du PVB19. Dans ce cas, l'échantillon peut être négatif pour l'ADN du PVB19 ou l'ADN du PVB19 est présent à une concentration inférieure à la limite de détection du test (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

Les échantillons positifs pour l'ADN du PVB19 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 « PVB19: DNA Detected, quantity below « LLoQ » copies/mL » (PVB19 : ADN détecté, quantité inférieure à « LLoQ » copies/mL) (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

Les échantillons positifs pour l'ADN du PVB19 dans la plage de mesure linéaire sont détectés et rapportés comme « PVB19: DNA Detected, quantity equal to "XXX" copies/mL ». (PVB19 : ADN détecté, quantité égale à « XXX » copies/mL) (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

Les échantillons positifs pour l'ADN du PVB19 qui sont supérieurs à la limite supérieure de quantification sont rapportés comme « PVB19: DNA Detected, quantity beyond "ULoQ" copies/mL » (PVB19 : ADN 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 (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

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

Les résultats de l'échantillon sont stockés dans la base de données et, s'ils sont valides, peuvent être approuvés (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).

D. Rapport des résultats de l'échantillon

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

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

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

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

PROCÉDURE AVEC LE ELiTe BeGenius

La procédure d'utilisation du **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** avec le **ELiTe BeGenius** comporte trois étapes :

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

ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre le système **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 (**PVB19 Q - PCR Standard**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PVB19 PCR Mix** à utiliser. Si aucun calibrateur valide n'est disponible pour le lot de **PVB19 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 (**PVB19 Positive Control**, **PVB19 Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PVB19 PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **PVB19 PCR Mix**, analyser les contrôles de PCR comme décrit dans les sections suivantes,

choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et en utilisant les Assay Protocols (Protocoles de test) fournis par EG SpA (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).

Si le Assay Protocol (Protocole de test) d'intérêt n'est pas chargé dans le système, contacter le service clientèle ELiTechGroup local.

Des protocoles d'analyse qualitative sont disponibles sur demande.

ÉTAPE 2 – Paramétrage de la session d'analyse

Le **PVB19 ELiTe MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELiTe BeGenius** pour les opérations suivantes :

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

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

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

Avant de paramétrer une analyse :

Décongeler les tubes de **PVB19 PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer **24 tests** dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

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

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

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Si requis, transférer 200 µL d'échantillon dans un tube Sarstedt de 2 mL (non fourni) 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.	Si nécessaire, décongeler le « Elution tube » (Tube d'élué) contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Retirer tous les Racks de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (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'élué).
6	Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 5 » (L5). Si nécessaire, insérer le « Sample ID » (ID échantillon) (SID) pour chaque « Position » utilisée. (Si des tubes secondaires sont chargés, les marquer « 2 mL Tube » (Tube de 2 mL). Si les tubes secondaires ne comportent pas de codes-barres, saisir manuellement le « Sample ID » [ID échantillon]).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élué) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (Volume d'éluat extrait).
7	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élué de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élué de l'extraction) est de 100 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'élué) dans le « Elution Rack » (Rack d'élué) (les tubes d'élué peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité).	Non applicable
13	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élué) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure en utilisant la « Lane 2 » (L2).	Non applicable
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Non applicable
15	Charger le CPE et le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élué).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élué).
16	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élué) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque PCR Mix et/ou CPE, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élué) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
17	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
18	Vérifier les embouts dans le(s) « Tip Rack(s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans le(s) « Tip Rack(s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.
19	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
20	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
21	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
22	Charger le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELiTe InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis.	Non applicable
23	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
24	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

	C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
1	Décongeler les tubes de Q-PCR Standard nécessaires (Cal1 : Q-PCR Standard 10 ² , Cal2 : Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3 : Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4 : Q-PCR Standard 10 ⁵) pendant 30 minutes à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Contrôle positif à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Préparer le Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élué) 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 Contrôle positif et de Contrôle négatif dans le « Elution Rack » (Rack d'élution).
6	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
7	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 100 µL.
9	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
11	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).
12	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
13	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
14	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.
15	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
16	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
17	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
18	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
19	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

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

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

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

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

Remarque : les étalons **PVB19 Q-PCR Standard** peuvent être utilisés pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 2 heures chacune.

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

Remarque : le **PVB19 Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

Remarque : 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.

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

Le **ELiTe BeGenius** génère les résultats à l'aide du **Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

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

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

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC LES ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius

Sensibilité analytique : Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) de l'amplification de l'ADN permet de détecter la présence d'environ 10 copies dans 20 µL d'ADN ajoutés à la réaction d'amplification.

La LoD de ce test a été déterminée par des tests sur le **ELiTe InGenius** en utilisant de l'ADN plasmidique contenant le produit d'amplification dont la concentration initiale a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. L'ADN plasmidique a été dilué à un titre de 10 copies/20 µL en présence d'ADN génomique humain à un titre de 500 ng/20 µL. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	positifs	négatifs
10 copies d'ADN plasmidique + 500 ng d'ADN génomique humain	24	24	0

Sang total prélevé sur EDTA

La valeur théorique de la LoD a été vérifiée sur les **ELiTe InGenius** et **ELiTe BeGenius** en testant un pool d'échantillons de sang total prélevé sur EDTA dopés avec un matériel de référence du parvovirus B19 (3^e étalon international de l'OMS, NIBSC) à la concentration revendiquée (125 UI/mL).

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

Limite de détection pour des échantillons de sang total avec les ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius					
Échantillon	LoD	N	Valide	Positif	Négatif
Sang total prélevé sur EDTA	125 UI/mL	20	20	20	0
	250 copies/mL				

Parvovirus B19 ELiTe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour la cible du Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit sur les ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius. La valeur de la LoD pour la cible PVB19 en association avec des échantillons de sang total a été confirmée à 125 UI/mL, ce qui correspond à 250 copies/mL.

La valeur exprimée en copies/mL a été calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué au paragraphe « Sensibilité analytique ».

Liquide amniotique

La LoD du test utilisé en association avec des échantillons de liquide amniotique a été déterminée, sur l'instrument ELiTe InGenius, en testant un panel d'échantillons de liquide amniotique négatifs pour le parvovirus B19 (PVB19) et dopés avec un matériel de référence du PVB19 (3^e étalon international de l'OMS, NIBSC). Une analyse de régression des probits a été réalisée sur les résultats, et la LoD a été estimée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 %.

Les résultats sont présentés dans les tableaux suivants.

Limite de détection pour des échantillons de liquide amniotique avec le ELiTe InGenius			
Cible	LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
PVB19	40 UI/mL	35 UI/mL	50 UI/mL
	40 copies/mL	35 copies/mL	50 copies/mL

La LoD, exprimée en copies/mL pour le liquide amniotique, a été calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique (1 UI/ copie) indiqué au paragraphe « Sensibilité analytique ».

La valeur de la LoD calculée a été vérifiée sur les ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius en testant un pool d'échantillons de liquide amniotique dopés avec un matériel de référence certifié du PVB19 (3^e étalon international de l'OMS, NIBSC) à la concentration revendiquée.

Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour la cible du Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit sur les ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius.

Sensibilité analytique : plage de mesure linéaire

La plage de mesure linéaire du test a été vérifiée avec des échantillons de sang total et de liquide amniotique sur les ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius.

Pour le sang total prélevé sur EDTA

La plage de mesure linéaire a été vérifiée en utilisant un panel de dilutions d'un matériel de référence du PVB19 (3^e étalon international de l'OMS, NIBSC) dans des échantillons de sang total prélevé sur EDTA négatifs.

Les résultats sont présentés sur les figures suivantes.

Parvovirus B19 ELiTe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

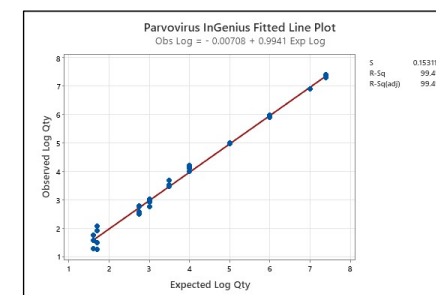
Plage de mesure linéaire pour des échantillons de sang total avec les ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius		
Unité	Limite inférieure	Limite supérieure
UI/mL	125	25,000,000
copies/mL	250	50,000,000

La plage de mesure linéaire en copies/mL pour le sang total prélevé sur EDTA est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué à la section suivante.

Pour le liquide amniotique

La plage de mesure linéaire a été vérifiée en utilisant un panel de dilutions d'un matériel de référence du PVB19 (NIBSC) dans des échantillons de liquide amniotique négatifs.

Les résultats sont présentés sur les figures suivantes.



Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Plage de mesure linéaire pour des échantillons de liquide amniotique avec les ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius		
Unité	Limite inférieure	Limite supérieure
UI/mL	40	25,000,000
copies/mL	40	25,000,000

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

Répétabilité

La répétabilité intra-session et inter-sessions du test a été évaluée sur les ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de sang total prélevé sur EDTA, incluant un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du PVB19 (3^e étalon international de l'OMS, NIBSC).

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

Répétabilité intra-session, ELiTe InGenius					
Échantillon	PVB19				
	N.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	8	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	8	35,81	0,52	1,46	100 %
10 x la LoD	8	34,31	0,28	0,83	100 %

Répétabilité intra-session, ELiTe BeGenius					
Échantillon	PVB19				
	N.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	8	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	8	36,53	0,53	1,46	100 %
10 x la LoD	8	34,79	0,21	0,61	100 %

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

Répétabilité inter-sessions, ELiTe InGenius					
Échantillon	PVB19				
	N.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	16	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	16	35,87	0,44	1,23	100 %
10 x la LoD	16	34,19	0,28	0,83	100 %

Répétabilité inter-sessions, ELiTe BeGenius					
Échantillon	PVB19				
	N.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	16	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	16	36,40	0,45	1,23	100 %
10 x la LoD	16	34,68	0,27	0,79	100 %

Dans le test de répétabilité, le Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit a détecté la cible et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 1,46 %.

Reproductibilité

La reproductibilité inter-instruments et inter-lots du test a été évaluée sur les ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de sang total prélevé sur EDTA, incluant un échantillon négatif et deux échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du PVB19 (3^e étalon international de l'OMS, NIBSC).

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

Reproductibilité inter-instruments, ELiTe InGenius					
Échantillon	PVB19				
	N.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	8	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	8	36,89	0,62	1,68	100 %
10 x la LoD	8	34,85	0,26	0,74	100 %

Reproductibilité inter-instruments, ELiTe BeGenius					
Échantillon	PVB19				
	N.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	8	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	8	37,00	0,37	1,00	100 %
10 x la LoD	8	35,14	0,51	1,46	100 %

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

Reproductibilité inter-lots, ELiTe InGenius					
Échantillon	PVB19				
	N.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	8	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	8	36,80	0,67	1,82	100 %
10 x la LoD	8	35,18	0,71	2,02	100 %

Reproductibilité inter-lots, ELiTe BeGenius					
Échantillon	PVB19				
	N.	Ct moyen	EC	% CV	Concordance (%)
Négatif	8	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	8	37,41	0,27	0,72	100 %
10 x la LoD	8	35,31	0,32	0,90	100 %

Dans le test de reproductibilité inter-instruments et inter-lots, le Parvovirus B19 ELiTe MGB Kit a correctement détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 2,02 %.

Sensibilité analytique : reproductibilité avec un matériel de référence certifié

La sensibilité analytique du test, en tant que reproductibilité des valeurs d'un matériel de référence étalonné, a été évaluée en utilisant, à titre de matériel de référence, le panel étalonné « QCMD 2014 B19 Virus DNA EQA Panel » (Qnostics Ltd, Royaume-Uni), un panel de dilutions du PVB19. Chaque échantillon du panel a été testé en 2 réplicats en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction, l'amplification, la détection et l'interprétation des résultats, à l'aide du **ELiTe InGenius** et des produits ELiTechGroup S.p.A.

Les résultats en UI/mL ont été calculés en appliquant le facteur de conversion ($F_c = 0,3$ UI/copie) pour le **ELiTe InGenius** avec du plasma. Ils sont présentés dans le tableau suivant.

Tests avec un matériel de référence étalonné et le ELiTe InGenius®				
Échantillon	Consensus conc. virus Log ₁₀ UI/mL	Écart-type	Positifs/Réplicats	Résultats moyens Log ₁₀ UI/mL
B19DNA14-01	4,788	0,507	2/2	4,948
B19DNA14-02	2,878	0,437	2/2	2,902
B19DNA14-03	4,848	0,400	2/2	4,850
B19DNA14-04	Négatif	N.A.	0/2	N.A.
B19DNA14-05	5,802	0,465	2/2	5,847
B19DNA14-06	1,936	0,672	2/2	1,779
B19DNA14-07	3,913	0,371	2/2	3,955
B19DNA14-08	3,844	0,507	2/2	4,063

Tous les échantillons ont été correctement détectés. Tous les résultats positifs ont été quantifiés dans la plage définie par le consensus ± 1 écart-type (EC).

Facteur de conversion en unités internationales

Le facteur de conversion (F_c) pour indiquer les résultats quantitatifs en unités internationales/mL à partir d'un nombre de copies/mL, a été calculé sur le ELiTe InGenius en utilisant le matériel de référence étalonné et certifié du PVB19 (NIBSC).

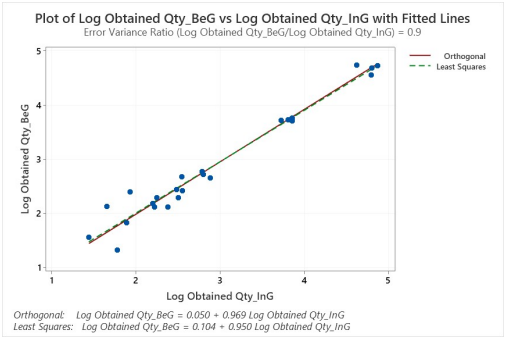
Sang total prélevé sur EDTA

Il a été déterminé que le facteur de conversion était de 0,5 UI/copie sur le ELiTe InGenius en utilisant un panel de dilutions d'un matériel de référence du PVB19 (2^e étalon international de l'OMS, NIBSC) dans des échantillons de sang total prélevé sur EDTA négatifs.

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

Facteur de conversion en unités internationales, Fc = 0,5 UI/copie						
Échantillon			Résultat			Différence log. (réf. - test)
UI/mL	Log UI/mL	N	Moyenne copies/mL	Moyenne UI/mL	Moyenne Log UI/mL	
100,000	5,0000	10	214,661	107,331	5,0210	-0,0210
10,000	4,0000	10	21,433	10,716	4,0080	-0,0080
1,000	3,0000	10	2,136	1,068	2,9850	+0,0150

La valeur du facteur de conversion a été vérifiée sur les **ELiTe InGenius** et **ELiTe BeGenius** en utilisant le matériel de référence étalonné et certifié (3^e étalon international de l'OMS, NIBSC), qui a été vérifié de 5,0000 Log UI/mL à 2,0970 Log UI/ mL. Les résultats obtenus ont été analysés par une régression orthogonale et linéaire afin de calculer leur corrélation.



L'analyse de régression orthogonale générait une ordonnée à l'origine de 0,050 (IC à 95 % : -0,197 ; 0,296) et une pente de 0,969 (IC à 95 % : 0,889 ; 1,048). L'analyse de régression linéaire générait un R² de 0,963.

Liquide amniotique

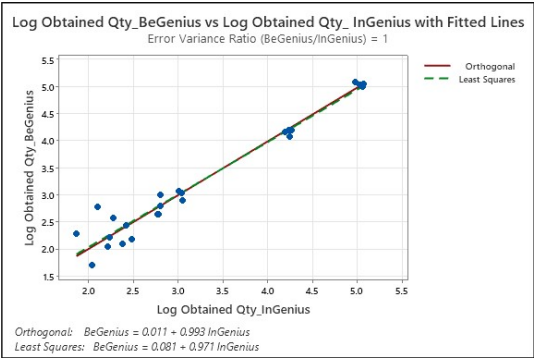
Il a été déterminé que le facteur de conversion était de 1 UI/copie sur le **ELiTe InGenius** en utilisant un panel de dilutions d'un matériel de référence du PVB19 (3^e étalon international de l'OMS, NIBSC) dans des échantillons de liquide amniotique négatifs.

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

Facteur de conversion en unités internationales, Fc = 1 UI/copie						
Échantillon			Résultat			Différence log. (réf. - test)
UI/mL	Log UI/mL	N	Moyenne copies/mL	Moyenne UI/mL	Moyenne Log UI/mL	
316,228	5,5000	16	273,604	273,604	5,4360	0,0640
100,000	5,0000	16	88,997	88,997	4,9470	0,0530
31,623	4,5000	16	34,559	34,559	4,5340	-0,0340
10,000	4,0000	16	11,089	11,089	4,0390	-0,0390
3,162	3,5000	15*	3,704	3,704	3,5580	-0,0580
1,000	3,0000	16	932	932	2,9520	0,0480

*Un échantillon a généré une valeur aberrante et a été exclus de l'analyse.

La valeur du facteur de conversion a été vérifiée sur les **ELiTe InGenius** et **ELiTe BeGenius** en utilisant le matériel de référence étalonné et certifié (3^e étalon international de l'OMS, NIBSC), qui a été vérifié de 5,0000 Log UI/mL à 2,0970 Log UI/ mL. Les résultats obtenus ont été analysés par une régression orthogonale et linéaire afin de calculer leur corrélation.



L'analyse de régression orthogonale générait une ordonnée à l'origine de 0,0112 (IC à 95 % : 0,2879 ; 0,3103) et une pente de 0,9928 (IC à 95 % : 0,9046 ; 1,0810). L'analyse de régression linéaire générait un R² de 0,957.

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

Facteur de conversion en unités internationales avec les ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius	
Matrice	Fc (UI/copies)
Sang total	0,5
Liquide amniotique	1,0

Sensibilité diagnostique : confirmation des échantillons positifs

La sensibilité diagnostique du test, déterminée par les échantillons cliniques positifs, a été évaluée en association avec le **ELiTe InGenius** en analysant des échantillons cliniques de sang total prélevé sur EDTA et de liquide amniotique, certifiés positifs pour la cible ou dopés avec un matériel de référence. Étant donné que les performances analytiques du **ELiTe BeGenius** sont équivalentes à celles du **ELiTe InGenius**, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la sensibilité diagnostique du test obtenue en association avec le **ELiTe InGenius** s'applique également au **ELiTe BeGenius**.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	Positifs	Négatifs	Sensibilité diagnostique (%)
Sang total prélevé sur EDTA et dopé avec de l'ADN du PVB19	30	30	0	100
Liquide amniotique dopé avec de l'ADN du PVB19	30	30	0	100

Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons négatifs, a été évaluée en association avec le **ELiTe InGenius** en analysant des échantillons cliniques de sang total prélevé sur EDTA et de liquide amniotique, certifiés négatifs pour la cible. Étant donné que les performances analytiques du **ELiTe BeGenius** sont équivalentes à celles du **ELiTe InGenius**, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la spécificité diagnostique du test obtenue en association avec le **ELiTe InGenius** s'applique également au **ELiTe BeGenius**.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	Positifs	Négatifs	Spécificité diagnostique (%)
Sang total prélevé sur EDTA et négatif pour l'ADN du PVB19	30	0	30	100
Liquide amniotique négatif pour l'ADN du PVB19	30	0	30	100

La valeur seuil Ct de l'IC est définie à 35 pour les échantillons de sang total prélevé sur EDTA et les échantillons de liquide amniotique lorsqu'ils ont été testés sur les ELITe InGenius et ELITe BeGenius.

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES POUR D'AUTRES SYSTÈMES

Échantillons

Ce produit doit être utilisé avec de l'**ADN extrait** des échantillons cliniques suivants : sang total (périphérique et de moelle osseuse) prélevé sur EDTA, plasma prélevé sur EDTA.

Sang total prélevé sur EDTA

Les échantillons de sang total (périphérique et de moelle osseuse) pour l'extraction des acides nucléiques doivent être prélevés sur de l'EDTA conformément aux directives de laboratoire. Ils doivent être transportés entre +2 et +8 °C et conservés entre +2 et +8 °C pendant trois jours au maximum. Sinon, ils doivent être congelés et conservés à -20 °C pendant trente jours au maximum ou à -70 °C pour des périodes plus longues.

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 : pour procéder à l'extraction de l'ADN du sang total avec le système **ELITe STAR** et la **version logicielle 3.4.13** (ou versions ultérieures équivalentes), utiliser le protocole d'extraction **UUNI_E100_S200_EL1**, qui traite 200 µL d'échantillon et effectue l'élution de l'extrait dans 100 µL. Les échantillons dans les tubes primaires peuvent être chargés directement sur le système « **ELITe STAR** ». Un volume minimum de 700 µL est toujours requis pour chaque échantillon. Ajouter **200 µL** de **CPE** dans un tube de protéinase-véhicule comme indiqué dans le manuel du kit d'extraction. Pour la procédure d'extraction, se reporter au mode d'emploi du kit d'extraction.

REMARQUE : pour procéder à l'extraction de l'ADN du sang total avec le système **ELITe GALAXY** et la **version logicielle 1.3.1** (ou versions ultérieures équivalentes), utiliser le protocole d'extraction **xNA Extraction (Universal)**, qui traite 300 µL d'échantillon et effectue l'élution de l'extrait dans 200 µL. Les échantillons dans les tubes primaires peuvent être chargés directement sur le système « **ELITe GALAXY** ». Un volume minimum de 400-650 µL, selon la classe de tube utilisée, est toujours requis pour chaque échantillon. Ajouter **10 µL/échantillon** de **CPE**. Le CPE doit être ajouté à la **solution IC + véhicule** comme indiqué dans le manuel du kit d'extraction. Pour la procédure d'extraction, se reporter au mode d'emploi du kit d'extraction.

Plasma prélevé sur EDTA

Les échantillons de plasma pour l'extraction des acides nucléiques doivent être prélevés sur de l'EDTA conformément aux directives de laboratoire. Ils doivent être transportés entre +2 et +8 °C et conservés entre +2 et +8 °C pendant trois jours au maximum. Sinon, ils doivent être congelés et conservés à -20 °C pendant trente jours au maximum ou à -70 °C pour des périodes plus longues.

Il est recommandé de diviser les échantillons en aliquotes avant la congélation afin d'éviter des cycles répétés de congélation et de décongélation.

REMARQUE : pour procéder à l'extraction de l'ADN du plasma avec le système **ELITe STAR** et la **version logicielle 3.4.13** (ou versions ultérieures équivalentes), utiliser le protocole d'extraction **UUNI_E100_S200_EL1**, qui traite 200 µL d'échantillon et effectue l'élution de l'extrait dans 100 µL. Les échantillons dans les tubes primaires peuvent être chargés directement sur le système « **ELITe STAR** ». Un volume minimum de 700 µL est toujours requis pour chaque échantillon. Ajouter **200 µL** de **CPE** dans un tube de protéinase-véhicule comme indiqué dans le manuel du kit d'extraction. Pour la procédure d'extraction, se reporter au mode d'emploi du kit d'extraction.

REMARQUE : pour procéder à l'extraction de l'ADN du plasma avec le système **ELITe GALAXY** et la **version logicielle 1.3.1** (ou versions ultérieures équivalentes), utiliser le protocole d'extraction **xNA Extraction (Universal)**, qui traite 300 µL d'échantillon et effectue l'élution de l'extrait dans 200 µL. Les échantillons dans les tubes primaires peuvent être chargés directement sur le système « **ELITe GALAXY** ». Un volume minimum de 400-650 µL, selon la classe de tube utilisée, est toujours requis pour chaque échantillon. Ajouter **10 µL/**

échantillon de **CPE**. Le CPE doit être ajouté à la **solution IC + véhicule** comme indiqué dans le manuel du kit d'extraction. Pour la procédure d'extraction, se reporter au mode d'emploi du kit d'extraction.

REMARQUE : pour procéder à l'extraction de l'ADN du plasma à l'aide de l'instrument « **NucliSENS® easyMAG®** », utiliser le protocole d'extraction **Generic 2.0.1** et suivre ces instructions : transférer **500 µL** d'échantillon dans la barrette à 8 puits, ajouter **5 µL** de **CPE** pour le contrôle interne avant d'ajouter la **NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica**. Éluer les acides nucléiques dans **100 µL** de tampon d'élution.

REMARQUE : pour procéder à l'extraction de l'ADN du plasma avec l'instrument « **QIASymphony® SP/AS** » et le kit « **QIASymphony® DSP Virus / Pathogen Midi kit** » avec la **version logicielle 3.5**, utiliser le protocole d'extraction « **Virus Cell free 500_V3_DSP_default IC** » et suivre ces instructions : l'instrument est capable d'utiliser un tube primaire, le volume d'échantillon requis pour l'extraction est de **500 µL** et un volume mort minimum de 100 µL est toujours nécessaire. Préparer la solution contenant le tampon AVE et le véhicule d'ARN conformément au manuel d'instructions du kit d'extraction. Ajouter **6 µL/échantillon** de **CPE** à la solution pour chaque échantillon à analyser. Sur l'instrument, dans le compartiment « internal control » (contrôle interne), charger les tubes contenant la solution comme indiqué dans le mode d'emploi du kit ; indiquer la position où les éluats seront distribués et préciser le volume d'élution de **85 µL**. Pour obtenir plus de détails sur la procédure d'extraction, suivre les indications du mode d'emploi du kit.

Autres échantillons :

Il n'existe actuellement aucune donnée disponible en ce qui concerne les performances du produit avec de l'ADN extrait des échantillons cliniques suivants : suspensions de leucocytes et suspensions de granulocytes.

Substances interférentes

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

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

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

Contrôles d'amplification

Il est absolument indispensable de valider chaque session d'amplification avec une réaction de contrôle négatif et une réaction de contrôle positif.

Pour le contrôle négatif, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non fournie avec ce produit) pour l'ajouter à la réaction à la place de l'ADN extrait de l'échantillon.

Pour le contrôle positif, utiliser le produit « **Parvovirus B19 - ELITe Positive Control** » ou le produit « **Parvovirus B19 ELITe Standard** ».

Contrôles de qualité

Il est recommandé de valider l'ensemble de la procédure d'analyse de chaque session d'extraction et d'amplification en testant les contrôles du processus, c'est-à-dire un échantillon testé négatif et un échantillon testé positif ou du matériel de référence étalonné.

PROCÉDURES POUR D'AUTRES SYSTÈMES

Paramétrage de la session d'amplification en temps réel

(À effectuer dans la zone dédiée à l'amplification/la détection des produits d'amplification)

Avec un instrument **7300 Real-Time PCR System** :

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

- mettre le thermocycleur en temps réel en marche, puis l'ordinateur, lancer le logiciel dédié et ouvrir une session de « absolute quantification » (quantification absolue) ;
- paramétrer (à l'aide du « Detector Manager » [Gestionnaire de détecteur]) : le « detector » (détecteur) pour la sonde PVB19 avec le « reporter » (rapporteur) = « FAM » et le « quencher » (désactivateur) = « none » (aucun) (non fluorescent) et le nommer « PVB19 » ;
- paramétrer (à l'aide du Detector Manager [Gestionnaire de détecteur]) : le « detector » (détecteur) pour la sonde du contrôle interne, le « reporter » (rapporteur) = « VIC » (AP525 est analogue à VIC), et le « quencher » (désactivateur) = « none » (aucun) (non fluorescent) et le nommer « IC » ;
- pour chaque puits utilisé dans la microplaque, paramétrer (à l'aide du Well Inspector [Inspecteur de puits]) : le « detector » (détecteur) (type de fluorescence à mesurer), la « passive reference » (référence passive) = « ROX » (AP593 est utilisé à la place de ROX, pour la normalisation de la fluorescence mesurée) et le type de réaction (échantillon, contrôle d'amplification négatif, contrôle d'amplification positif ou étalon en quantité connue). Ajouter ces informations à la **Work Sheet** (Fiche de travail) jointe à la fin du présent manuel ou imprimer la configuration de la microplaque. La **Work Sheet** (Fiche de travail) doit être scrupuleusement suivie pendant le transfert du mélange réactionnel complet et des échantillons dans les puits.

REMARQUE : afin de déterminer le titre de l'ADN dans l'échantillon de départ, paramétrer un ensemble de réactions avec les étalons **Q - PCR Standards** (10^5 copies, 10^4 copies, 10^3 copies, 10^2 copies) pour obtenir la **courbe d'étalonnage**.

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

S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10	S11	S12
NC	10^2	10^3	10^4	10^5							

Légende : **S1 - S12** : échantillons à analyser ; **NC** : contrôle négatif d'amplification ;

10^2 : étalon à 10^2 copies ; **10^3** : étalon à 10^3 copies ; **10^4** : étalon à 10^4 copies ; **10^5** : étalon à 10^5 copies.

En se reportant à la documentation de l'instrument, définir les paramètres du **cycle thermique** sur le logiciel dédié (Instrument > Thermal Cycler Protocol > Thermal Profile [Instrument > Protocole du thermocycleur > Profil thermique]) :

- à l'étape d'amplification, ajouter l'étape (Add Step [Ajouter étape]) d'**extension à 72 °C** ;

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

- modifier le temps comme indiqué dans le tableau suivant ;
- paramétrer le nombre de cycles sur **45** ;
- paramétrer le volume pour l'émulation logicielle du transfert thermique à la réaction (« Sample volume » [Volume d'échantillon]) sur **30 µL** ;
- facultatif : ajouter l'étape de dissociation (Add Dissociation Stage [Ajouter étape de dissociation]) et paramétrer la température entre **40 °C** et **80 °C**.

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

Avec un instrument **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument** :

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

- mettre le thermocycleur en temps réel en marche, puis l'ordinateur, lancer le logiciel dédié, ouvrir une session de « absolute quantification » (quantification absolue) et choisir le « Run mode: Fast 7500 » (Mode d'exécution : Fast 7500) ;
- paramétrer (à l'aide du « Detector Manager » [Gestionnaire de détecteur]) : le « detector » (détecteur) pour la sonde PVB19 avec le « reporter » (rapporteur) = « FAM » et le « quencher » (désactivateur) = « none » (aucun) (non fluorescent) et le nommer « PVB19 » ;
- paramétrer (à l'aide du Detector Manager [Gestionnaire de détecteur]) : le « detector » (détecteur) pour la sonde du contrôle interne, le « reporter » (rapporteur) = « VIC » (AP525 est similaire à VIC), et le « quencher » (désactivateur) = « none » (aucun) (non fluorescent) et le nommer « IC » ;
- pour chaque puits utilisé dans la microplaque, paramétrer (à l'aide du Well Inspector [Inspecteur de puits]) : le « detector » (détecteur) (type de fluorescence à mesurer), la « passive reference » (référence passive) = « Cy5 » (AP593 est utilisé à la place de Cy5, pour la normalisation de la fluorescence mesurée) et le type de réaction (échantillon, contrôle d'amplification négatif, contrôle d'amplification positif ou étalon en quantité connue). Ajouter ces informations à la **Work Sheet** (Fiche de travail) jointe à la fin du présent manuel ou imprimer la configuration de la microplaque. La **Work Sheet** (Fiche de travail) doit être scrupuleusement suivie pendant le transfert du mélange réactionnel complet et des échantillons dans les puits.

REMARQUE : afin de déterminer le titre de l'ADN dans l'échantillon de départ, paramétrer un ensemble de réactions avec les étalons **Q - PCR Standards** (10^5 copies, 10^4 copies, 10^3 copies, 10^2 copies) pour obtenir la **courbe d'étalonnage**.

Le paramétrage de l'analyse quantitative de quelques échantillons est présentée, à titre d'exemple, dans le paragraphe précédent décrivant la procédure pour l'instrument **7300 Real Time PCR System**.

En se reportant à la documentation de l'instrument, définir les paramètres du **cycle thermique** sur le logiciel dédié (Instrument > Thermal Cycler Protocol > Thermal Profile [Instrument > Protocole du thermocycleur > Profil thermique]) :

- à l'étape d'amplification, ajouter l'étape (Add Step [Ajouter étape]) d'**extension à 72 °C** ;

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

- modifier le temps comme indiqué dans le tableau « Cycle thermique » ;
- paramétrer le nombre de cycles sur **45** ;
- paramétrer le volume pour l'émulation logicielle du transfert thermique à la réaction (« Sample volume » [Volume d'échantillon]) sur **30 µL** ;
- facultatif : ajouter l'étape de dissociation (Add Dissociation Stage [Ajouter étape de dissociation]) et paramétrer la température entre **40 °C** et **80 °C**.

Cycle thermique		
Étape	Températures	Temps
Décontamination	50 °C	2 min.
Dénaturation initiale	94 °C	2 min.
Amplification et détection (45 cycles)	94 °C	10 s
	60 °C (collecte des données)	30 s
	72 °C	20 s
Dissociation (facultatif)	95 °C	15 s
	40 °C	1 min.
	80 °C	15 s
Dissociation (facultatif)	60 °C	15 s

Paramétrage de l'amplification

(À effectuer dans la zone dédiée à l'extraction/la préparation de la réaction d'amplification)

Avant de commencer la session d'analyse, il est important de procéder comme suit :

- sortir et décongeler les tubes à essai contenant les échantillons à analyser. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ;
 - sortir et décongeler les tubes de **PVB19 Q - PCR Mix** requis pour la session d'analyse, en se rappelant que le contenu de chaque tube est suffisant pour préparer **25 réactions**. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ;
 - sortir et décongeler les tubes de **PVB19 - Positive Control** ou de **PVB19 Q - PCR Standard**. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ;
 - se munir de la **microplaque d'amplification** qui sera utilisée pendant la session d'analyse, en veillant à la manipuler avec des gants non poudrés et à ne pas endommager les puits.
1. Pipeter avec précision **20 µL** de **PVB19 Q - PCR Mix** au fond des puits de la **microplaque d'amplification**, comme précédemment établi dans la **Work Sheet** (Fiche de travail). Éviter d'introduire des bulles.

REMARQUE : si le mélange réactionnel n'est pas utilisé en intégralité, conserver le volume restant dans l'obscurité à -20 °C pendant un mois au maximum. Congeler et décongeler le mélange réactionnel **5 FOIS** au maximum.

2. En le déposant dans le mélange réactionnel, pipeter avec précision **20 µL** de l'**ADN extrait** du premier échantillon dans le puits correspondant de la **microplaque d'amplification**, comme précédemment établi dans la **Work Sheet** (Fiche de travail). Bien mélanger l'échantillon en pipetant l'**ADN extrait** à trois reprises dans le mélange réactionnel. Éviter d'introduire des bulles. Procéder de la même manière avec les autres échantillons d'**ADN extrait**.
3. En le déposant dans le mélange réactionnel, pipeter avec précision **20 µL** d'**eau de qualité biologie moléculaire** (non incluse avec ce produit) dans le puits de la **microplaque d'amplification** destiné au contrôle négatif d'amplification, comme précédemment établi dans la **Work Sheet** (Fiche de travail). Bien mélanger le contrôle négatif en pipetant l'**eau de qualité biologie moléculaire** à trois reprises dans le mélange réactionnel. Éviter d'introduire des bulles.

4. Selon le résultat requis (qualitatif ou quantitatif), suivre l'une des ces deux options :

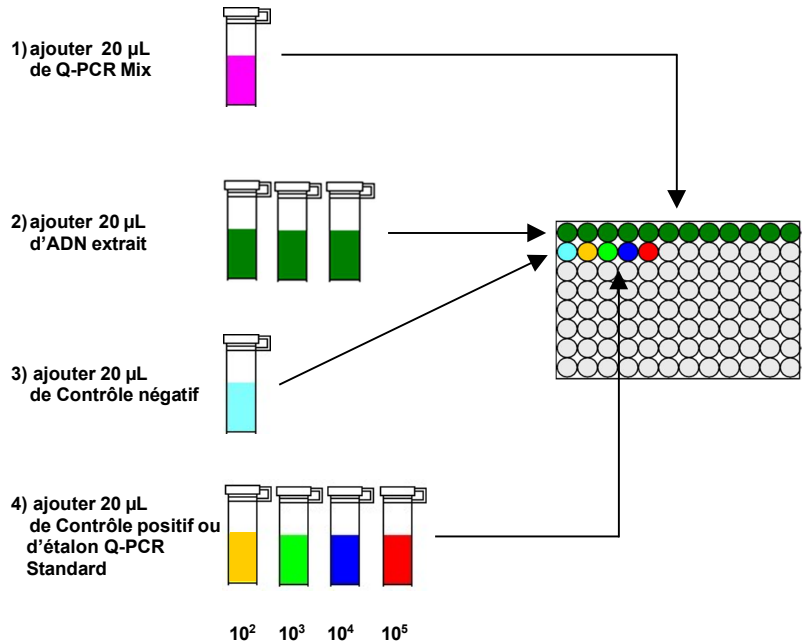
- Lorsqu'un résultat **qualitatif** est requis (détection de l'ADN du PVB19), pipeter avec précision, en le déposant dans le mélange réactionnel, **20 µL** de **PVB19 - Positive Control** dans le puits correspondant de la **microplaque d'amplification**, comme précédemment établi dans la **Work Sheet** (Fiche de travail). Bien mélanger le contrôle positif en pipetant le **PVB19 - Positive Control** à trois reprises dans le mélange réactionnel. Éviter d'introduire des bulles.

- Lorsqu'un résultat **quantitatif** est requis (quantification de l'ADN du PVB19), pipeter avec précision, en le déposant dans le mélange réactionnel, **20 µL** de **PVB19 Q - PCR Standard 10²** dans le puits correspondant de la **microplaque d'amplification**, comme précédemment établi dans la **Work Sheet** (Fiche de travail). Bien mélanger l'étalon en pipetant le **PVB19 Q - PCR Standard 10²** à trois reprises dans le mélange réactionnel. Éviter d'introduire des bulles. Procéder de la même manière avec les autres étalons **PVB19 Q - PCR Standards (10³, 10⁴, 10⁵)**.

5. Sceller avec précision la **microplaque d'amplification** à l'aide de la **feuille de scellage d'amplification**.
6. Transférer la **microplaque d'amplification** dans le thermocycleur en temps réel placé dans la zone d'amplification/de détection des produits d'amplification, et lancer le cycle thermique d'amplification en enregistrant les paramètres de la session d'analyse avec un nom de fichier univoque et reconnaissable (p. ex., « année-mois-jour-PVB19-EGSpA »).

N. B. : à la fin du cycle thermique, la microplaque d'amplification contenant les produits de la réaction doit être retirée de l'instrument et mise au rebut en évitant toute contamination environnementale. Afin d'éviter de renverser les produits de la réaction, la **feuille de scellage d'amplification ne doit pas être retirée de la microplaque d'amplification**.

La figure suivante présente de manière synthétique la préparation de la réaction d'amplification.



REMARQUE : si la préparation de l'amplification est effectuée avec l'instrument « **QIAsymphony® SP/AS** », insérer la microplaque contenant les extraits, les réactifs et la microplaque d'amplification dans les compartiments prévus à cet effet, en utilisant les adaptateurs spéciaux, puis suivre les indications du manuel d'utilisation pour paramétrer le module et les étapes requises par le logiciel.

REMARQUE : si la préparation de l'amplification est effectuée avec l'instrument « **ELITE GALAXY** », charger la microplaque d'élution, le mélange réactionnel complet et la microplaque d'amplification comme indiqué dans le manuel d'utilisation de l'instrument et suivre les étapes requises par la GUI.

Analyse qualitative des résultats

Les valeurs enregistrées de la fluorescence émise par la sonde spécifique pour le PVB19 (détecteur FAM « PVB19 ») et par la sonde du contrôle interne spécifique (détecteur VIC « IC ») dans les réactions d'amplification doivent être analysées par le logiciel de l'instrument.

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

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

REMARQUE : avec un échantillon positif présentant un titre élevé d'ADN du PVB19, la fluorescence FAM de la sonde spécifique pour le PVB19 peut commencer à augmenter avant le cycle 15. Dans ce cas, la plage de calcul pour la **Baseline** (Référence) doit être adaptée à partir du cycle 6 jusqu'au cycle pendant lequel la fluorescence FAM de l'échantillon commence à augmenter, tel que détecté par le logiciel de l'instrument (Results > Component [Résultats > Composant]).

Avec un **7300 Real-Time PCR System** :

- paramétrer manuellement le **Threshold** (Seuil) pour le détecteur FAM « PVB19 » sur **0,1** ;
- paramétrer manuellement le **Threshold** (Seuil) pour le détecteur VIC « IC » sur **0,05**.

Avec un **7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument** :

- paramétrer manuellement le **Threshold** (Seuil) pour le détecteur FAM « PVB19 » sur **0,2** ;
- paramétrer manuellement le **Threshold** (Seuil) pour le détecteur VIC « IC » sur **0,1**.

Les valeurs de la fluorescence émise par les sondes spécifiques dans la réaction d'amplification et la valeur **Threshold** (Seuil) de la fluorescence permettent de déterminer le **Threshold Cycle (Ct)** (Cycle seuil [Ct]), le cycle pendant lequel la fluorescence atteint la valeur **Threshold** (Seuil).

Dans la réaction d'amplification du **Contrôle positif***, la valeur **Ct** du PVB19 (Results > Report [Résultats > Rapport]) est utilisée pour valider l'amplification et la détection, comme décrit dans le tableau suivant :

Réaction du contrôle positif détecteur FAM « PVB19 »	Résultat du test	Amplification/Détection
Ct ≤ 25	POSITIF	CORRECTE

Si le résultat de la réaction d'amplification du **Contrôle positif** est **Ct > 25** ou **Ct indéterminé** pour le PVB19, l'ADN cible n'a pas été correctement détecté. Cela signifie que des problèmes sont survenus pendant l'étape d'amplification ou de détection (distribution incorrecte du mélange réactionnel ou du contrôle positif, dégradation du mélange réactionnel ou du contrôle positif, paramétrage incorrect de la position du contrôle positif, paramétrage incorrect du cycle thermique), ce qui peut générer des résultats incorrects. La session d'analyse n'est pas valide et doit être répétée en commençant par l'étape d'amplification.

***REMARQUE** : lorsque ce produit est utilisé pour la quantification de l'ADN du PVB19, les réactions des étalons **Q - PCR Standard** sont paramétrées à la place de la réaction du **Contrôle positif**. Dans ce cas, valider l'amplification et la détection en se reportant à la réaction d'amplification de l'étalon **Q - PCR Standard 10⁵ (Ct ≤ 25)**.

Dans la réaction d'amplification du **Contrôle négatif**, la valeur **Ct** du PVB19 (Results > Report [Résultats > Rapport]) est utilisée pour valider l'amplification et la détection, comme décrit dans le tableau suivant :

Réaction du contrôle négatif détecteur FAM « PVB19 »	Résultat du test	Amplification/Détection
Ct indéterminé	NÉGATIF	CORRECTE

Si le résultat de la réaction d'amplification du **Contrôle négatif** est différent de **Ct indéterminé** pour le PVB19, l'ADN cible a été détecté. Cela signifie que des problèmes sont survenus pendant l'étape d'amplification (contamination), ce qui peut générer des résultats incorrects et des faux positifs. La session d'analyse n'est pas valide et doit être répétée en commençant par l'étape d'amplification.

Dans la réaction d'amplification de chaque **échantillon**, la valeur **Ct** du PVB19 est utilisée pour détecter l'ADN cible alors que la valeur **Ct** du contrôle interne est utilisée pour valider l'extraction, l'amplification et la détection.

N.B. : à l'aide du logiciel de l'instrument (Results > Amplification plot > delta Rn vs Cycle [Résultats > Tracé d'amplification > delta Rn vs Cycle]), vérifier que le **Ct** a été déterminé par une augmentation rapide et régulière des valeurs de la fluorescence, et non par des pics ou une augmentation du bruit de fond (bruit de fond irrégulier ou important).

Le produit est capable de détecter une quantité minimale d'environ 10 copies d'ADN de la région VP1 du PVB19 dans la réaction d'amplification (limite de détection, se reporter au paragraphe « Caractéristiques de performance »).

Les résultats, en tant que valeur **Ct** des réactions d'amplification de chaque **échantillon** (Results > Report [Résultats > Rapport]), sont utilisés comme indiqué dans le tableau suivant :

Réaction d'échantillon		Adéquation de l'échantillon	Résultat du test	ADN du PVB19
détecteur FAM « PVB19 »	détecteur VIC « IC »			
Ct indéterminé	Ct > 35 ou Ct indéterminé	non adéquat	non valide	-
	Ct ≤ 35	adéquat	valide, négatif	NON DÉTECTÉ
Ct déterminé	Ct > 35 ou Ct indéterminé	adéquat	valide, positif	DÉTECTÉ
	Ct ≤ 35	adéquat	valide, positif	DÉTECTÉ

Si le résultat de la réaction d'amplification d'un échantillon est **Ct indéterminé** pour le PVB19 et **Ct > 35** ou **Ct indéterminé** pour le contrôle interne, cela signifie qu'il n'a pas été possible de détecter efficacement l'ADN du contrôle interne. Dans ce cas, des problèmes sont survenus pendant l'étape d'amplification (amplification inefficace ou nulle) ou pendant l'étape d'extraction (dégradation de l'échantillon d'ADN, échantillon comportant un nombre de cellules insuffisant, perte d'ADN pendant l'extraction ou présence d'inhibiteurs), ce qui peut générer des résultats incorrects et des faux négatifs. L'échantillon n'est pas adéquat, l'analyse n'est pas valide et doit être répétée en commençant par l'extraction d'un nouvel échantillon.

Si le résultat de la réaction d'amplification d'un échantillon est **Ct indéterminé** pour le PVB19 et **Ct ≤ 35** pour le contrôle interne, cela signifie que l'ADN du PVB19 n'a pas été détecté dans l'ADN extrait de l'échantillon ; toutefois, il n'est pas possible d'exclure le fait que de l'ADN du PVB19 soit présent à un titre inférieur à la limite de détection du produit (se reporter à la section concernant les « Caractéristiques de performance »). Dans ce cas, le résultat pourrait être un faux négatif.

Les résultats obtenus avec cette analyse doivent être interprétés en tenant compte de l'ensemble des données cliniques et des autres résultats de test de laboratoire du patient.

REMARQUE : lorsque l'ADN du PVB19 est détecté dans la réaction d'amplification d'un échantillon, le résultat du contrôle interne peut être **Ct > 35** ou **Ct indéterminé**. En fait, la réaction d'amplification de faible efficacité du contrôle interne peut être déplacée par compétition avec la réaction d'amplification de l'ADN du PVB19 hautement efficace. Dans ce cas, l'échantillon reste néanmoins adéquat et le résultat positif du test est valide.

Parvovirus B19 ELiTe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

Analyse quantitative des résultats

Après avoir réalisé la procédure d'analyse qualitative des résultats, il est possible d'effectuer l'analyse quantitative des résultats pour les échantillons positifs.

Dans les réactions d'amplification des quatre **Q - PCR standards**, les valeurs **Ct** du PVB19 sont utilisées pour calculer la **courbe d'étalonnage** (Results > Standard Curve [Résultats > Courbe d'étalonnage]) de la session d'amplification, pour valider l'amplification et la détection comme indiqué dans le tableau suivant :

Courbe d'étalonnage détecteur FAM « PVB19 »	Plage d'acceptabilité	Amplification/Détection
Coefficient de corrélation (R2)	0,990 ≤ R2 ≤ 1,000	CORRECTE

Si la valeur du **coefficient de corrélation (R2)** ne se situe pas dans les limites, cela signifie que des problèmes sont survenus pendant l'étape d'amplification ou de détection (distribution incorrecte du mélange réactionnel ou des étalons, dégradation du mélange réactionnel ou des étalons, paramétrage incorrect de la position des étalons, paramétrage incorrect du cycle thermique), ce qui peut générer des résultats incorrects. La session d'analyse n'est pas valide et doit être répétée en commençant par l'étape d'amplification.

Les valeurs **Ct** du PVB19 dans la réaction d'amplification de chaque **échantillon** et la **courbe d'étalonnage** de la session d'amplification sont utilisées pour calculer la **quantité** de l'ADN cible présente dans les réactions d'amplification des échantillons.

Ce produit est capable de quantifier 1 000 000 à 10 copies d'ADN de la région VP1 du PVB19 dans la réaction d'amplification (plage de mesure linéaire, se reporter au paragraphe « Caractéristiques de performance »), comme indiqué dans le tableau suivant :

Résultat de l'échantillon détecteur FAM « PVB19 »	Copies du PVB19 par réaction
Quantité > 1 x 10 ⁶	PLUS DE 1,000,000
1 x 10 ¹ ≤ Quantité ≤ 1 x 10 ⁶	= Quantité
Quantité < 1 x 10 ¹	MOINS DE 10

Les résultats (**Quantité**) de chaque **échantillon** (Results > Report [Résultats > Rapport]) sont utilisés pour calculer le nombre de copies du PVB19 présentes dans l'échantillon extrait (**Nc**) selon la formule suivante :

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

Dans laquelle :

Vc est la quantité de l'échantillon utilisé dans l'extraction selon l'unité de mesure requise ;

Ep est l'efficacité de la procédure, à savoir l'extraction et l'amplification, **exprimée en valeurs décimales** ;

Ve est le volume total du produit d'extraction **exprimé en µL** ;

Va est le volume du produit d'extraction utilisé dans la réaction d'amplification **exprimé en µL** ;

Quantité est le résultat de la réaction d'amplification de l'échantillon **exprimé en copies par réaction**.

En cas d'utilisation du système « **ELiTe STAR** » avec des échantillons de sang total prélevé sur EDTA ou de plasma prélevé sur EDTA et si le résultat doit être **exprimé en copies/mL**, la formule est la suivante :

Formule simplifiée pour le sang total et le plasma avec le système « ELiTe STAR »

$$Nc \text{ (copies/mL)} = 28 \times \text{Quantité}$$

Parvovirus B19 ELiTe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

En cas d'utilisation du système « **ELiTe GALAXY** » avec des échantillons de sang total prélevé sur EDTA ou de plasma prélevé sur EDTA et si le résultat doit être **exprimé en copies/mL**, la formule est la suivante :

Formule simplifiée pour le sang total et le plasma avec le système « ELiTe GALAXY »

$$Nc \text{ (copies/mL)} = 35 \times \text{Quantité}$$

En cas d'utilisation du système d'extraction « **NucliSENS® easyMAG®** » avec des échantillons de plasma prélevé sur EDTA et si le résultat doit être **exprimé en copies/mL**, la formule est la suivante :

Formule simplifiée pour le plasma avec le système « NucliSENS® easyMAG® »

$$Nc \text{ (copies/mL)} = 10 \times \text{Quantité}$$

En cas d'utilisation du système d'extraction « **QIA Symphony® SP/AS** » avec des échantillons de plasma prélevé sur EDTA et si le résultat doit être **exprimé en copies/mL**, la formule est la suivante :

Formule simplifiée pour le plasma avec le système « QIA Symphony® SP/AS »

$$Nc \text{ (copies/mL)} = 12 \times \text{Quantité}$$

Calcul des limites de la plage de mesure linéaire

Lorsqu'une méthode d'extraction particulière est utilisée, les limites de la plage de mesure linéaire de l'échantillon peuvent être calculées à partir de la plage de mesure linéaire de la réaction d'amplification selon la formule suivante :

$$\text{Limite inférieure (copies/mL)} = \frac{Ve \times 10 \text{ copies}}{Vc \times Va \times Ep}$$

$$\text{Limite supérieure (copies/mL)} = \frac{Ve \times 1\,000\,000 \text{ copies}}{Vc \times Va \times Ep}$$

En cas d'utilisation du système d'extraction « **ELiTe STAR** » avec des échantillons de sang total ou de plasma prélevé sur EDTA, la formule est la suivante :

Limites de la plage de mesure (copies/mL) avec le système « ELiTe STAR »

$$\text{Limite inférieure (copies/mL)} = 28 \times 10 \text{ copies}$$

$$\text{Limite supérieure (copies/mL)} = 28 \times 1\,000\,000 \text{ copies}$$

de 280 à 28 000 000 copies/mL

En cas d'utilisation du système d'extraction « **ELiTe GALAXY** » avec des échantillons de sang total ou de plasma prélevé sur EDTA, la formule est la suivante :

Limites de la plage de mesure (copies/mL) avec le système « ELiTe GALAXY »

$$\text{Limite inférieure (copies/mL)} = 35 \times 10 \text{ copies}$$

$$\text{Limite supérieure (copies/mL)} = 35 \times 1\,000\,000 \text{ copies}$$

de 350 à 35 000 000 copies/mL

En cas d'utilisation du système d'extraction **NucliSENS® easyMAG®** avec des échantillons de plasma prélevé sur EDTA, la formule est la suivante :

Limites de la plage de mesure (copies/mL) avec le système « NucliSENS® easyMAG® »

$$\text{Limite inférieure (copies/mL)} = 10 \times 10 \text{ copies}$$

$$\text{Limite supérieure (copies/mL)} = 10 \times 1\,000\,000 \text{ copies}$$

En cas d'utilisation du système d'extraction « **QIASymphony® SP/AS** » avec des échantillons de plasma prélevé sur EDTA, la formule est la suivante :

Limites de la plage de mesure (copies/mL) avec le système « QIASymphony® SP/AS »
Limite inférieure (copies/mL) = 12 x 10 copies
Limite supérieure (copies/mL) = 12 x 1 000 000 copies
de 120 à 12 000 000 copies/mL

Conversion des résultats en unités internationales (UI)

Fc est le facteur de conversion établi en utilisant le matériel étalonné de référence approuvé par l'OMS, à savoir le « 2^e étalon international de l'OMS pour les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN) de l'ADN du parvovirus B19 », NIBSC réf. 99/802, Royaume-Uni (se reporter au paragraphe « Caractéristiques de performance »).

En cas d'utilisation du système « **ELiTe STAR** » avec des échantillons de sang total prélevé sur EDTA et si le résultat doit être **exprimé en UI/mL**, la formule est la suivante :

Formule simplifiée pour le sang total avec le système ELiTe STAR
Fc = 0,98 UI/copies
Nc (UI/mL) = Nc (copies/mL) x Fc
Nc (UI/mL) = 27,4 x Quantité

En cas d'utilisation du système « **ELiTe STAR** » avec des échantillons de plasma prélevé sur EDTA et si le résultat doit être **exprimé en UI/mL**, la formule est la suivante :

Formule simplifiée pour le plasma avec le système ELiTe STAR
Fc = 0,69 UI/copies
Nc (UI/mL) = Nc (copies/mL) x Fc
Nc (UI/mL) = 19,3 x Quantité

En cas d'utilisation du système « **ELiTe GALAXY** » avec des échantillons de sang total prélevé sur EDTA et si le résultat doit être **exprimé en UI/mL**, la formule est la suivante :

Formule simplifiée pour le sang total avec le système « ELiTe GALAXY »
Fc = 0,82 UI/copies
Nc (UI/mL) = Nc (copies/mL) x Fc
Nc (UI/mL) = 28,7 x Quantité

En cas d'utilisation du système « **ELiTe GALAXY** » avec des échantillons de plasma prélevé sur EDTA et si le résultat doit être **exprimé en UI/mL**, la formule est la suivante :

Formule simplifiée pour le plasma avec le système « ELiTe GALAXY »
Fc = 0,87 UI/copies
Nc (UI/mL) = Nc (copies/mL) x Fc
Nc (UI/mL) = 30,5 x Quantité

En cas d'utilisation du système d'extraction « **NucliSENS® easyMAG®** » avec des échantillons de plasma prélevé sur EDTA et si le résultat doit être **exprimé en UI/mL**, la formule est la suivante :

Formule simplifiée pour le plasma avec le système « NucliSENS® easyMAG® »
Fc = 1 UI/copies
Nc (UI/mL) = Nc (copies/mL) x Fc
Nc (UI/mL) = 10 x Quantité

En cas d'utilisation du système d'extraction « **QIASymphony® SP/AS** » avec des échantillons de plasma prélevé sur EDTA et si le résultat doit être **exprimé en UI/mL**, la formule est la suivante :

Formule simplifiée pour le plasma avec le système « QIASymphony® SP/AS »
Fc = 1 UI/copies
Nc (UI/mL) = Nc (copies/mL) x Fc
Nc (UI/mL) = 12 x Quantité

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE AVEC D'AUTRES SYSTÈMES

Sensibilité analytique : limite de détection

La sensibilité analytique de ce test permet de détecter la présence d'environ 10 molécules d'ADN cible dans 20 µL d'ADN ajoutés à la réaction d'amplification.

La sensibilité analytique de ce test, en tant que limite de détection, a été testée en utilisant un ADN plasmidique contenant le produit d'amplification dont la concentration initiale a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. L'ADN plasmidique a été dilué à un titre de 10 copies/20 µL dans de l'ADN génomique humain à un titre de 500 ng/20 µL. Cet échantillon a été testé en 50 réplicats en effectuant l'amplification à l'aide des produits ELiTechGroup S.p.A.

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Échantillons	N°	positifs	négatifs
10 copies d'ADN plasmidique + 500 ng d'ADN génomique humain	50	50	0

La sensibilité analytique de ce test utilisé en association avec des échantillons de sang total et le système **ELiTe STAR** a été vérifiée avec un panel de dilutions du parvovirus B19 comprises dans la plage de la concentration limite. Le panel a été préparé en diluant le « 2^e étalon international de l'OMS pour les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN) de l'ADN du parvovirus B19 » (NIBSC code 99/802, Royaume-Uni) dans du sang total prélevé sur EDTA négatif pour l'ADN du parvovirus B19. Les concentrations virales étaient comprises entre 3,161 UI/mL et 1000 UI/mL. Chaque échantillon du panel a été testé en 12 réplicats en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction avec le système **ELiTe STAR**, et l'amplification à l'aide des produits ELiTechGroup S.p.A. L'analyse statistique a été effectuée en utilisant une régression des probits. La limite de détection a été calculée pour les concentrations auxquelles la probabilité de résultat positif était de 95 %. Les résultats finaux sont présentés dans les tableaux suivants.

Limite de détection pour des échantillons de sang total avec le système ELiTe STAR (UI/mL)			
		Intervalle de confiance à 95 %	
		limite inférieure	limite supérieure
Positivité de 95 %	293 UI/mL	159 UI/mL	1053 UI/mL

Limite de détection pour des échantillons de sang total avec le système ELiTe STAR (copies/mL)			
		Intervalle de confiance à 95 %	
		limite inférieure	limite supérieure
Positivité de 95 %	299 copies/mL	162 copies/mL	1074 copies/mL

La sensibilité analytique de ce test utilisé en association avec des échantillons de plasma et le système **ELiTe STAR** a été vérifiée avec un panel de dilutions du parvovirus B19 comprises dans la plage de la concentration limite. Le panel a été préparé en diluant le « 2^e étalon international de l'OMS pour les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN) de l'ADN du parvovirus B19 » (NIBSC code 99/802, Royaume-Uni) dans du plasma prélevé sur EDTA négatif pour l'ADN du parvovirus B19. Les concentrations virales étaient comprises entre 3,161 UI/mL et 1000 UI/mL. Chaque échantillon du panel a été testé en 8 réplicats en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction avec le système **ELiTe STAR**, et l'amplification à l'aide des produits ELiTechGroup S.p.A. L'analyse statistique a été effectuée en utilisant une régression des probits. La limite de détection a été calculée pour les concentrations auxquelles la probabilité de résultat positif était de 95 %.

Les résultats finaux sont présentés dans les tableaux suivants.

Limite de détection pour des échantillons de plasma avec le système ELiTe STAR (UI/mL)			
		Intervalle de confiance à 95 %	
		limite inférieure	limite supérieure
Positivité de 95 %	100 UI/mL	45 UI/mL	987 UI/mL

Limite de détection pour des échantillons de plasma avec le système ELiTe STAR (copies/mL)			
		Intervalle de confiance à 95 %	
		limite inférieure	limite supérieure
Positivité de 95 %	145 copies/mL	65 copies/mL	1430 copies/mL

La sensibilité analytique de ce test utilisé en association avec des échantillons de sang total et le système **ELiTe GALAXY** a été vérifiée avec un panel de dilutions du parvovirus B19 comprises dans la plage de la concentration limite. Le panel a été préparé en diluant le « 2^e étalon international de l'OMS pour les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN) de l'ADN du parvovirus B19 » (NIBSC code 99/802, Royaume-Uni) dans du sang total prélevé sur EDTA négatif pour l'ADN du parvovirus B19. Les concentrations virales étaient comprises entre 10 UI/mL et 560 UI/mL. Chaque échantillon du panel a été testé en 12 réplicats en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction et le paramétrage de la PCR avec le système **ELiTe GALAXY**, et l'amplification à l'aide des produits ELiTechGroup S.p.A. L'analyse statistique a été effectuée en utilisant une régression des probits. La limite de détection a été calculée pour les concentrations auxquelles la probabilité de résultat positif était de 95 %. Les résultats finaux sont présentés dans les tableaux suivants.

Limite de détection pour des échantillons de sang total avec le système ELiTe GALAXY (UI/mL)			
		Intervalle de confiance à 95 %	
		limite inférieure	limite supérieure
Positivité de 95 %	145 UI/mL	80 UI/mL	562 UI/mL

Limite de détection pour des échantillons de sang total avec le système ELiTe GALAXY (copies/mL)			
		Intervalle de confiance à 95 %	
		limite inférieure	limite supérieure
Positivité de 95 %	177 copies/mL	98 copies/mL	685 copies/mL

La sensibilité analytique de ce test utilisé en association avec des échantillons de plasma et le système **ELiTe GALAXY** a été vérifiée avec un panel de dilutions du parvovirus B19 comprises dans la plage de la concentration limite. Le panel a été préparé en diluant le « 2^e étalon international de l'OMS pour les tests d'amplification des acides nucléiques (TAN) de l'ADN du parvovirus B19 » (NIBSC réf. 99/802, Royaume-Uni) dans du plasma prélevé sur EDTA négatif pour l'ADN du parvovirus B19. Les concentrations virales étaient comprises entre 10 UI/mL et 560 UI/mL. Chaque échantillon du panel a été testé en 12 réplicats en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction et le paramétrage de la PCR avec le système **ELiTe GALAXY**, et l'amplification à l'aide des produits ELiTechGroup S.p.A. L'analyse statistique a été effectuée en utilisant une régression des probits. La limite de détection a été calculée pour les concentrations auxquelles la probabilité de résultat positif était de 95 %. Les résultats finaux sont présentés dans les tableaux suivants.

Limite de détection pour des échantillons de plasma avec le système ELiTe GALAXY (UI/mL)			
		Intervalle de confiance à 95 %	
		limite inférieure	limite supérieure
Positivité de 95 %	79 UI/mL	54 UI/mL	174 UI/mL

Limite de détection pour des échantillons de plasma avec le système ELiTe GALAXY (copies/mL)			
		Intervalle de confiance à 95 %	
		limite inférieure	limite supérieure
Positivité de 95 %	91 copies/mL	62 copies/mL	200 copies/mL

Sensibilité analytique : plage de mesure linéaire

La sensibilité analytique de ce test permet de quantifier entre 1,000,000 et 10 molécules d'ADN cible dans 20 µL d'ADN ajoutés à la réaction d'amplification.

La sensibilité analytique de ce test, en tant que plage de mesure linéaire, a été déterminée en utilisant un panel de dilutions (1 log₁₀ d'une dilution à l'autre) d'un ADN plasmidique contenant le produit d'amplification, dont la concentration initiale a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. Des dilutions de 10⁷ molécules par réaction à 10¹ molécules par réaction ont été testées en 9 réplicats en réalisant l'amplification à l'aide des produits ELiTechGroup S.p.A.

L'analyse des données obtenues, utilisant une régression linéaire, a montré que le test présentait une réponse linéaire pour tous les points du panel (coefficient de corrélation linéaire supérieur à 0,99).

La limite supérieure de la plage de mesure linéaire a été définie à 10⁶ molécules par réaction, à plus ou moins un logarithme de la concentration la plus élevée de l'étalon d'amplification Q - PCR Standard (10⁵ molécules/20 µL).

La limite inférieure de la plage de mesure linéaire a été définie à environ 10 molécules par réaction, à plus ou moins un logarithme de la concentration la plus faible de l'étalon d'amplification Q - PCR Standard (10² molécules/20 µL).

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Plage de mesure linéaire (UI/réaction)	
Limite supérieure	1,000,000 copies d'ADN/réaction
Limite inférieure	10 copies d'ADN/réaction

Les limites de la plage de mesure linéaire, exprimées en UI/mL et en référence au kit d'extraction utilisé, sont calculées à la page 33.

Sensibilité analytique : précision et exactitude

La précision du test, en tant que variabilité des résultats obtenus avec plusieurs réplicats d'un échantillon testé dans la même session d'analyse, a permis d'obtenir un pourcentage de coefficient de variation moyen (% CV) d'environ 20,4 % des quantités mesurées, dans la plage de 10⁶ molécules à 10¹ molécules dans les 20 µL d'ADN ajoutés à la réaction d'amplification.

L'exactitude du test, en tant que différence entre la moyenne des résultats obtenus avec plusieurs réplicats d'un échantillon dans la même session d'analyse et la concentration théorique de l'échantillon, a permis d'obtenir un pourcentage d'imprécision moyen (% Imprécision) d'environ 12,4 % des quantités mesurées, dans la plage de 10⁶ molécules à 10¹ molécules dans les 20 µL d'ADN ajoutés à la réaction d'amplification.

La précision et l'exactitude ont été déterminées en utilisant les données obtenues dans l'étude de la plage de mesure linéaire.

Parvovirus B19 ELITe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

Sensibilité analytique : reproductibilité avec un matériel de référence étalonné

La sensibilité analytique du test, en tant que reproductibilité des résultats par comparaison aux résultats obtenus avec d'autres tests dans différents laboratoires, a été vérifiée en testant un matériel de référence étalonné.

Les tests ont été effectués en utilisant, à titre de matériel de référence étalonné, un panel de dilutions du PVB19 comprises dans la limite de concentration (QCMD 2008 B19 Virus EQA Panel, Qnostics Ltd, Royaume-Uni). Chaque échantillon du panel a été testé en double en effectuant l'analyse complète, à savoir une extraction et une amplification, à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tests avec un matériel de référence étalonné				
Échantillon	Consensus du test commercial Log ₁₀ UI/mL conc. virus	Écart-type	Positifs/Réplicats	Résultats moyens Log ₁₀ UI/mL
B1908-01	PVB19, 2,396	0,534	2/2	2,636
B1908-02	PVB19, 3,966	0,596	2/2	4,182
B1908-03	PVB19, 2,822	0,574	2/2	2,750
B1908-04	Négatif, NA	N.A.	0/2	Non détecté
B1908-05	PVB19, 2,894	0,607	2/2	2,928
B1908-06	PVB19, 2,061	0,577	2/2	1,969
B1908-07	PVB19, 2,926	0,648	2/2	3,026
B1908-08	PVB19, 3,575	0,595	2/2	3,627

Tous les échantillons ont été correctement détectés. Tous les résultats quantitatifs obtenus sont compris dans la plage définie par le consensus du test commercial ± 1 écart-type (EC).

Des tests supplémentaires ont été effectués en utilisant, à titre de matériel de référence étalonné, un panel de dilutions du PVB19 comprises dans la limite de concentration (QCMD 2012 B19 Virus EQA Panel, Qnostics Ltd, Royaume-Uni). Chaque échantillon a été testé en double en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction à l'aide du système **ELITe STAR** et l'amplification à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A.

Les résultats en UI/mL ont été calculés en appliquant le facteur de conversion pour le système **ELITe STAR** avec du plasma. Ils sont présentés dans le tableau suivant.

Tests avec un matériel de référence étalonné et le système ELITe STAR				
Échantillon	Consensus du test commercial Log ₁₀ UI/mL conc. virus	Écart-type	Positifs/Réplicats	Résultats moyens Log ₁₀ UI/mL
B1912-01	PVB19, 1,684	0,488	2/2	2,242
B1912-02	PVB19, 3,716	0,522	2/2	4,078
B1912-03	Négatif, N.A.	-	0/2	-
B1912-04	PVB19, 6,378	0,686	2/2	6,675
B1912-05	PVB19, 4,486	0,641	2/2	4,849
B1912-06	PVB19, 2,687	0,577	1/2	2,837
B1912-07	PVB19, 5,565	0,487	2/2	5,639
B1912-08	PVB19, 2,704	0,386	2/2	2,839

Tous les échantillons ont été correctement détectés. Six (6) échantillons positifs sur sept ont été quantifiés comme étant compris dans la plage définie par le consensus ± 1 EC et un échantillon (B1912-01) a été quantifié à ± 2 EC. Ce résultat peut s'expliquer par le titre de l'échantillon qui était inférieur à la limite de détection du système.

Des tests supplémentaires ont été effectués en utilisant, à titre de matériel de référence étalonné, un panel de dilutions du PVB19 comprises dans la limite de concentration (QCMD 2014 B19 Virus EQA Panel, Qnostics Ltd, Royaume-Uni). Chaque échantillon du panel a été testé en double en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction et le paramétrage de la PCR avec le système **ELITe GALAXY**, et l'amplification à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A.

Parvovirus B19 ELITe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

Les résultats en UI/mL ont été calculés en appliquant le facteur de conversion pour le système **ELITe GALAXY** avec du plasma. Ils sont présentés dans le tableau suivant.

Tests avec un matériel de référence étalonné et le système ELITe GALAXY				
Échantillon	Consensus des tests commerciaux Log ₁₀ UI/mL conc. virus	Écart-type	Positifs/Réplicats	Résultats moyens Log ₁₀ UI/mL
B19DNA14-01	PVB19, 4,788	0,507	2/2	4,977
B19DNA14-02	PVB19, 2,878	0,437	2/2	3,115
B19DNA14-03	PVB19, 4,848	0,400	2/2	4,848
B19DNA14-04	Négatif, N.A.	-	0/2	-
B19DNA14-05	PVB19, 5,802	0,465	2/2	5,996
B19DNA14-06	PVB19, 1,936	0,672	2/2	1,653
B19DNA14-07	PVB19, 3,913	0,371	2/2	3,972
B19DNA14-08	PVB19, 3,844	0,507	2/2	4,555

Tous les échantillons ont été correctement détectés. Six (6) échantillons positifs sur sept ont été quantifiés comme étant compris dans la plage définie par le consensus ± 1 EC et un échantillon (B19DNA14-08) a été quantifié à ± 2 EC.

Sensibilité analytique : Facteur de conversion en unités internationales

Sang total prélevé sur EDTA

Le facteur de conversion a été déterminé en utilisant un panel de trois dilutions (étape de dilutions de 0,5 log₁₀) du matériel de référence étalonné approuvé par l'OMS (« 2^e étalon international de l'OMS pour les tests d'amplification des acides nucléiques de l'ADN du parvovirus B19 » (NIBSC réf. 99/802, Royaume-Uni) dans du sang total prélevé sur EDTA.

Chaque point du panel a été testé en 15 réplicats en effectuant l'analyse complète, à savoir l'extraction avec le système **ELITe STAR** et l'amplification à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A.

L'analyse des données obtenues permet de calculer un facteur de conversion (Fc) moyen de 0,9 UI par copie de PVB19 détectée avec des échantillons de sang total. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Conversion en unités internationales avec du sang total et le système ELITe STAR Fc = 0,98 UI/copie				
Conc. attendue UI/mL	Conc. attendue Log ₁₀ UI/mL	Quantité moyenne copies/mL	Quantité moyenne UI/mL	Quantité moyenne Log ₁₀ UI/mL
31,623	4,500	29,023	28,434	4,443
10,000	4,000	9,631	9,435	3,947
3,162	3,500	4,346	4,258	3,607

Chaque point du panel a été testé en 15 réplicats en effectuant l'analyse complète, à savoir l'extraction et le paramétrage de PCR avec le système **ELITe GALAXY**, et l'amplification à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A.

L'analyse des données obtenues permet de calculer un facteur de conversion (Fc) moyen de 0,8 UI par copie de PVB19 détectée avec des échantillons de sang total. Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Conversion en unités internationales avec du sang total et le système ELITe GALAXY Fc = 0,82 UI/copie				
Conc. attendue UI/mL	Conc. attendue Log ₁₀ UI/mL	Quantité moyenne copies/mL	Quantité moyenne UI/mL	Quantité moyenne Log ₁₀ UI/mL
31,623	4,500	48,688	39,924	4,471
10,000	4,000	13,885	11,386	4,029
3,162	3,500	6,085	4,990	3,506

Plasma prélevé sur EDTA

Le facteur de conversion a été déterminé en utilisant un panel de trois dilutions (étape de dilutions de 0,5 log₁₀) du matériel de référence étalonné approuvé par l'OMS («2^e étalon international de l'OMS pour les tests d'amplification des acides nucléiques de l'ADN du parvovirus B19 » (NIBSC réf. 99/802, Royaume-Uni) dans du plasma prélevé sur EDTA.

Chaque point du panel a été testé en 15 réplicats en effectuant l'analyse complète, à savoir l'extraction avec le système **ELITe STAR** et l'amplification à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A.

L'analyse des données obtenues permet de calculer un facteur de conversion (Fc) moyen de 0,6 UI par copie de PVB19 détectée avec des échantillons de plasma. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Conversion en unités internationales avec du plasma et le système ELITe STAR Fc = 0,69 UI/copie				
Conc. attendue UI/mL	Conc. attendue Log ₁₀ UI/mL	Quantité moyenne copies/mL	Quantité moyenne UI/mL	Quantité moyenne Log ₁₀ UI/mL
31,623	4,500	39,888	27403	4,425
10,000	4,000	14,901	10,237	3,987
3,162	3,500	5,862	4,027	3,588

Chaque point du panel a été testé en 15 réplicats en effectuant l'analyse complète, à savoir l'extraction et le paramétrage de PCR avec le système **ELITe GALAXY**, et l'amplification à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A.

L'analyse des données obtenues permet de calculer un facteur de conversion (Fc) moyen de 0,8 UI par copie de PVB19 détectée avec des échantillons de plasma. Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Conversion en unités internationales avec du plasma et le système ELITe GALAXY Fc = 0,87 UI/copie				
Conc. attendue UI/mL	Conc. attendue Log ₁₀ UI/mL	Quantité moyenne copies/mL	Quantité moyenne UI/mL	Quantité moyenne Log ₁₀ UI/mL
31,623	4,500	30,768	26,768	4,423
10,000	4,000	15,154	13,184	4,119
3,162	3,500	3,378	2,939	3,458

Le facteur de conversion moyen devant être utilisé avec ce test en association avec les systèmes d'extraction « **NucliSENS® easyMAG®** » ou « **QIAAsymphony® SP/AS** » pour convertir un résultat quantitatif, de copies/mL en unités internationales/mL, a été défini à 1 UI par copie d'ADN cible.

Sensibilité diagnostique : efficacité de détection et de quantification avec différents génotypes/sous-types

La sensibilité diagnostique du test, en ce qui concerne l'efficacité de détection et de quantification de différents génotypes/sous-types, a été évaluée par une comparaison de séquences avec des bases de données de nucléotides.

L'analyse des régions choisies pour l'hybridation des amorces et de la sonde fluorescente dans l'alignement des séquences disponibles dans la base de données pour la région de l'VP1 du PVB19, incluant les génotypes 1, 2, 3a et 3b, a montré leur conservation et une absence de mutations significatives.

La sensibilité diagnostique du test, en ce qui concerne l'efficacité de détection et de quantification de différents génotypes/sous-types, a été vérifiée en utilisant quelques produits de recombinaison plasmidiques correspondant aux génotypes 1, 2 et 3a ou 3b.

La sensibilité diagnostique du test a été vérifiée en utilisant trois plasmides contenant la séquence de la région amplifiée des génotypes 1, 2 et 3 (la même pour les sous-types 3a et 3b). Les plasmides ont été dilués de 105 copies par réaction à 102 copies par réaction. Ces échantillons ont été testés en trois réplicats en effectuant l'amplification à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tests avec des plasmides correspondant au génotype 1, génotype 2, génotype 3				
Concentration attendue copies/réaction	Concentration attendue Log ₁₀ copies/réaction	Quantité moyenne détectée pour le génotype 1 Log ₁₀ copies/réaction	Quantité moyenne détectée pour le génotype 2 Log ₁₀ copies/réaction	Quantité moyenne détectée pour le génotype 3 Log ₁₀ copies/réaction
100,000	5,000	5,013	4,882	4,849
10,000	4,000	4,009	3,910	3,862
1,000	3,000	3,024	2,911	2,848
100	2,000	2,037	2,026	1,921

Les résultats sont compris dans la plage définie par la valeur attendue $\pm 0,2$ log₁₀.

Sensibilité diagnostique : confirmation des échantillons positifs

La sensibilité diagnostique a été évaluée en utilisant 30 échantillons de plasma prélevé sur EDTA qui étaient négatifs pour l'ADN du PVB19 et avaient été dopés avec de l'ADN du PVB19 en ajoutant l'échantillon B1912-05, issu du « QCMD 2012 B19 Virus EQA Panel » (Qnostics Ltd, Royaume-Uni), et 30 échantillons de sang total prélevé sur EDTA qui étaient négatifs pour l'ADN du PVB19 et avaient été dopés avec de l'ADN du PVB19 en ajoutant l'échantillon B1912-05, issu du « QCMD 2012 B19 Virus EQA Panel » (Qnostics Ltd, Royaume-Uni). Chaque échantillon a été utilisé en effectuant la procédure d'analyse complète : l'extraction avec le système **ELITe STAR** et l'amplification à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	positifs	négatifs
Sang total prélevé sur EDTA dopé avec de l'ADN du PVB19	30	30	0
Plasma prélevé sur EDTA dopé avec de l'ADN du PVB19	30	30	0

Tous les échantillons dopés ont été correctement détectés comme positifs pour l'ADN du PVB19.

Dans ce test, la sensibilité diagnostique de l'analyse était de 100 %.

La sensibilité diagnostique a été évaluée en utilisant 30 échantillons de plasma qui étaient négatifs pour l'ADN du parvovirus B19 et avaient été dopés avec de l'ADN du parvovirus B19 en ajoutant l'échantillon B1912-05, issu du « QCMD 2012 B19 Virus EQA Panel » (Qnostics Ltd, Royaume-Uni), et 30 échantillons de sang total qui étaient négatifs pour l'ADN du parvovirus B19 et avaient été dopés avec de l'ADN du parvovirus B19 en ajoutant l'échantillon B1912-05, issu du « QCMD 2012 B19 Virus EQA Panel » (Qnostics Ltd, Royaume-Uni). Chaque échantillon a été utilisé en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction et le paramétrage de la PCR à l'aide du système **ELITe GALAXY** et l'amplification à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	positifs	négatifs
Sang total prélevé sur EDTA dopé avec de l'ADN du parvovirus B19	30	30	0
Plasma prélevé sur EDTA dopé avec de l'ADN du parvovirus B19	30	30	0

Tous les échantillons dopés ont été correctement détectés comme positifs pour l'ADN du PVB19.

Dans ce test, la sensibilité diagnostique de l'analyse était de 100 %.

Spécificité analytique : absence de réactivité croisée avec des marqueurs potentiellement interférents

La spécificité analytique du test, en ce qui concerne l'absence de réactivité croisée avec des marqueurs potentiellement interférents, a été évaluée par une comparaison de séquences avec des bases de données de nucléotides.

L'analyse de l'alignement des séquences des amorces et de la sonde fluorescente avec les séquences disponibles dans des bases de données d'organismes autres que le PVB19, incluant les génomes complets du parvovirus 4, bocavirus et dépendovirus, les virus humains les plus similaires au PVB19, a montré leur spécificité et l'absence d'homologie significative.

Parvovirus B19 ELITe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

La spécificité analytique du test, en ce qui concerne l'absence de réactivité croisée avec d'autres marqueurs potentiellement interférents, a été vérifiée en testant quelques échantillons cliniques négatifs pour l'ADN du PVB19 et positifs pour l'ADN d'autres agents pathogènes.

La spécificité analytique a été vérifiée en utilisant, à titre de matériel de référence, 22 échantillons de sang total (périphérique) prélevé sur EDTA, qui étaient négatifs pour l'ADN du PVB19 mais positifs pour l'ADN d'autres agents pathogènes tels que le PVB19, l'EBV, le CMV, le VZV, le HSV1 et le HHV8 (testés avec des produits d'amplification de DIV portant le marquage CE). Chaque échantillon a été testé en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir une extraction et une amplification, à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	positifs	négatifs
Sang total prélevé sur EDTA négatif pour l'ADN du PVB19 et positif pour l'ADN d'autres agents pathogènes	22	0	22

Aucune réactivité croisée n'a été détectée avec les échantillons positifs pour l'ADN d'autres agents pathogènes.

Spécificité diagnostique: confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons négatifs, a été testée à l'aide de quelques échantillons cliniques de sang total prélevé sur EDTA qui étaient négatifs pour l'ADN du PVB19.

La spécificité diagnostique a été évaluée en utilisant 30 échantillons de plasma prélevé sur EDTA qui étaient négatifs pour l'ADN du PVB19 et 30 échantillons de sang total prélevé sur EDTA qui étaient négatifs pour l'ADN du PVB19 (testés avec un produit d'amplification en temps réel de DIV portant le marquage CE). Chaque échantillon a été utilisé en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction à l'aide du système **ELITe STAR** et l'amplification à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	positifs	négatifs
Sang total prélevé sur EDTA négatif pour l'ADN du PVB19	30	0	30
Plasma prélevé sur EDTA négatif pour l'ADN du PVB19	30	0	30

Dans ce test, la spécificité diagnostique de l'analyse était de 100 %.

La spécificité diagnostique a été évaluée en utilisant 34 échantillons de plasma prélevé sur EDTA qui étaient négatifs pour l'ADN du parvovirus B19 et 34 échantillons de sang total prélevé sur EDTA qui étaient négatifs pour l'ADN du parvovirus B19 (testés avec un produit d'amplification en temps réel de DIV portant le marquage CE). Chaque échantillon a été utilisé en effectuant la procédure d'analyse complète, à savoir l'extraction et le paramétrage de la PCR à l'aide du système **ELITe GALAXY** et l'amplification à l'aide des produits ELITechGroup S.p.A.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	positifs	négatifs
Plasma prélevé sur EDTA présumé négatif pour l'ADN du parvovirus B19	34	0	34
Sang total prélevé sur EDTA présumé négatif pour l'ADN du parvovirus B19	33	1	32

Un échantillon de sang total a généré un résultat positif discordant (31 copies/mL). Le titre de cet échantillon était inférieur à la limite de détection de la méthode. Dans ce test, la sensibilité diagnostique de l'analyse était de 98,5 %.

REMARQUE : 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 « Parvovirus B19 ELITe MGB® Kit », FTP RTS070PLD.

BIBLIOGRAPHIE

F. McOmish et al. (1993) *J. Clin. Microbiol.* **31**: 323 - 328
E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* **35**: e30
K. Linnet et al. (2004) *Clin. Chem.* **50**: 732 - 740.

Parvovirus B19 ELITe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser ce produit uniquement avec les échantillons cliniques suivants : sang total (périphérique et de moelle osseuse) prélevé sur EDTA, plasma prélevé sur EDTA et liquide amniotique.

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

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

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

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

Les résultats obtenus avec ce produit dépendent de l'identification, 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 une contamination par les échantillons cliniques positifs, les contrôles positifs et les produits de PCR. Une contamination croisée peut générer des résultats faux positifs. Le format du produit est conçu pour limiter la contamination croisée. Toutefois, une contamination croisée ne peut être évitée qu'en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et en suivant le présent mode d'emploi.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius

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

Réaction du Contrôle négatif non valide

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

Réaction de l'échantillon non valide

Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix, du Contrôle Interne et de l'échantillon. Vérifier les volumes du PCR Mix, du Contrôle Interne et de l'échantillon.

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

Courbe de dissociation anormale

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

Erreur de calcul de la valeur Ct

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

Taux anormalement élevé de résultats positifs dans la même session d'analyse (réactions avec des valeurs Ct tardives similaires)

Causes possibles	Solutions
Contamination inter-échantillons pendant les étapes pré-analytiques.	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.

Parvovirus B19 ELiTe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

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. Utiliser un nouveau tube de PCR Mix et/ou de CPE.
--	--

Plateforme ouverte :

ADN cible non détecté dans les réactions du Contrôle positif ou de l'étalon Q - PCR Standard ou coefficient de corrélation non valide dans la courbe d'étalonnage

Causes possibles	Solutions
Distribution incorrecte dans les puits de la microplaque.	Faire attention lors de la distribution des réactions dans les puits de la microplaque et respecter la fiche de travail. Vérifier le volume du mélange réactionnel distribué. Vérifier le volume du contrôle positif ou de l'étalon distribué.
Dégradation de la sonde.	Utiliser une nouvelle aliquote du mélange réactionnel.
Dégradation du contrôle positif ou d'un étalon.	Utiliser une nouvelle aliquote du contrôle positif ou de l'étalon.
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier le paramétrage des positions pour les réactions du contrôle positif ou de l'étalon sur l'instrument. Vérifier le paramétrage du cycle thermique sur l'instrument.

ADN cible détecté dans la réaction du contrôle négatif

Causes possibles	Solutions
Distribution incorrecte dans les puits de la microplaque.	Éviter de renverser le contenu des tubes à essai d'échantillon. Toujours changer de cônes entre les échantillons. Faire attention lors de la distribution des échantillons, des contrôles négatifs, des contrôles positifs ou des étalons dans les puits de la microplaque, et se conformer à la feuille de travail.
Erreur lors du paramétrage de l'instrument.	Vérifier les réglages de position des échantillons, des contrôles négatifs, des contrôles positifs ou des étalons sur l'instrument.
Microplaque mal scellée.	Faire attention lors du scellage de la microplaque.
Contamination de l'eau de qualité biologie moléculaire.	Utiliser une nouvelle aliquote d'eau stérile.
Contamination du mélange réactionnel.	Utiliser une nouvelle aliquote du mélange réactionnel.
Contamination de la zone d'extraction/de préparation des réactions d'amplification.	Nettoyer les surfaces et les instruments avec des détergents aqueux, laver les blouses de laboratoire, remplacer les tubes à essai et les cônes utilisés.

Fluorescence de bruit de fond irrégulière ou élevée dans les réactions













Causes possibles	Solutions
Distribution incorrecte de l'échantillon.	Veiller à bien mélanger les échantillons, les contrôles négatifs et les contrôles positifs ou les étalons avec le mélange réactionnel en pipetant à trois reprises. Éviter d'introduire des bulles.
Erreur de paramétrage de la référence.	Paramétrer la plage de calcul de la référence dans les cycles au cours desquels la fluorescence de bruit de fond s'est déjà stabilisée (vérifier les données « Results » [Résultats], « Component » [Composant] et dans lesquels la fluorescence du signal n'a pas encore commencé à augmenter, par ex., du cycle 6 au cycle 15. Utiliser le calcul automatique de la référence en activant l'option « Auto Baseline » (Référence auto).

Parvovirus B19 ELiTe MGB® Kit
réactif de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS070PLD

Courbe de dissociation anormale	
Causes possibles	Solutions
Absence de pic défini. Pic défini mais différent de celui des autres échantillons et des étalons ou du contrôle positif.	Vérifier que la valeur Ct du détecteur FAM 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'un ADN cible comportant une éventuelle mutation. L'ADN cible de l'échantillon doit être séquençé pour confirmer la mutation.

LÉGENDE DES SYMBOLES

	Numéro de référence.
	Limite supérieure de température.
	Code de lot.
	Date de péremption (dernier jour du mois).
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> .
	Conforme aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> .
	Contenu suffisant pour « N » tests.
	Identifiant unique de dispositif
	Attention, 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 Thermo Fisher Scientific et commercialisés selon des accords de licence entre EG SpA et ses filiales et Thermo Fisher Scientific. Le prix d'achat de ce produit inclut des droits, limités et non transférables, qui permettent d'utiliser uniquement cette quantité du produit dans le seul objectif de satisfaire aux activités de l'acheteur qui sont directement liées à la réalisation de tests diagnostiques chez l'homme. Pour obtenir des informations sur l'achat d'une licence relative à ce produit à des fins autres que celles mentionnées ci-dessus, contacter le Licensing Department, Thermo Fisher Scientific. E-mail : outlicensing@thermofisher.com.

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

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

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

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.

NucLiSENS® easyMAG® sont des marques déposées de bioMérieux SA.

QIASymphony® est une marque déposée de QIAGEN GmbH.

Ficoll® est une marque déposée de GE Healthcare Bio-Sciences AB.