

Instructions for use

Parvovirus B19 ELITe MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN



REF RTS070PLD

UDI 08033891483623

CE
0123

IVD

HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Rév.	Avis de modification	Date (jj/mm/aa)
17-R	Mise à jour pour garantir la conformité aux exigences du Règlement (UE) 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> (IVDR). Mise à jour des performances analytiques et diagnostiques au paragraphe CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE Mise à jour de la section « Application » : Validation des produits en association avec les instruments ELITE InGenius (RÉF INT030) et ELITE BeGenius (RÉF INT040) avec les matrices de sang total prélevé sur EDTA et de liquide amniotique. La composition du produit reste inchangée Nouveaux graphiques et contenu du mode d'emploi.	30/01/26
16	Extension de l'utilisation sur l'instrument automatisé et intégré ELITE BeGenius avec la matrice de liquide amniotique. Ajout d'informations sur l'UDI	03/06/24
15	Mise à jour de l'utilisation du produit en association avec l'instrument « ELITE BeGenius® » (RÉF INT040).	28/01/22
14	<i>Mise à jour des noms des protocoles de test devant être utilisés avec le système ELITE InGenius®</i>	30/01/20
13	Extension de l'utilisation avec la matrice de liquide amniotique en association avec l'instrument ELITE InGenius® .	11/10/17
00-12	Développement de nouveaux produits et modifications ultérieures	-

NOTE!

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

RÉF. DU PRODUIT	Numéro de lot	Date de péremption
RTS070PLD	U0624-073	30/04/26
RTS070PLD	U1124-016	30/06/26
RTS070PLD	U0625-043	30/06/27

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

SOMMAIRE

1 APPLICATION.....	4
2 PRINCIPE DU TEST	4
3 DESCRIPTION DU PRODUIT	4
4 MATÉRIEL FOURNI	5
5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	5
6 AUTRES PRODUITS REQUIS.....	6
7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS.....	6
8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES.....	8
9 PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius	10
10 PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius	18
11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	24
12 BIBLIOGRAPHIE	32
13 LIMITES DE LA PROCÉDURE.....	33
14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS	34
15 LÉGENDE DES SYMBOLES.....	36
16 AVIS AUX UTILISATEURS	37
17 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE.....	37
Appendix A QUICK START GUIDE.....	38

1 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 quantitatif de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la **détection et la quantification de l'ADN du parvovirus B19 humain (PVB19)**, extrait d'échantillons cliniques.

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

Ce produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic et à la surveillance des infections par le parvovirus B19 chez les patients suspectés de présenter une infection ou surveillés pour une infection par le parvovirus B19.

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

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

2 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.

NOTE!

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).

3 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 (**24 tests avec chaque tube**), en utilisant 20 µL par réaction.

4 MATÉRIEL FOURNI

Tableau 1

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 naturel	4 x 540 µL	-

5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

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

6 AUTRES PRODUITS REQUIS

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

Pour l'extraction 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 1.3.0.19 (ou versions ultérieures) PVB19 ELITE _STD , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs PVB19 ELITE _PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif PVB19 ELITE _NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif PVB19 ELITE _WB_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total PVB19 ELITE _AF_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de liquide amniotique	Parvovirus B19 ELITE Standard (EG SpA, réf. STD070PLD) Parvovirus B19 – ELITE Positive Control (EG SpA, réf. CTR070PLD) CPE – Internal Control (EG SpA, réf. CTRCPE) ELITE InGenius SP200 (EG SpA, réf. INT032SP200) Consommables pour les ELITE InGenius et ELITE BeGenius (se reporter au mode d'emploi des instruments ELITE InGenius et ELITE BeGenius)
ELITE BeGenius (EG SpA réf. INT040) ELITE BeGenius Software version 2.3.0. (ou versions ultérieures) PVB19 ELITE _Be_STD , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des calibrateurs PVB19 ELITE _Be_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif PVB19 ELITE _Be_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif PVB19 ELITE _Be_WB_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total PVB19 ELITE _Be_AF_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de liquide amniotique	

7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Ce produit est exclusivement réservé à une utilisation in vitro.

7.1 Avertissements et précautions d'ordre général

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

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

- Porter des vêtements et des gants de protection appropriés et se protéger les yeux et le visage,
- Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche,
- Ne pas manger, boire, fumer ou appliquer de produits cosmétiques dans les zones de travail,
- Se laver soigneusement les mains après toute manipulation des échantillons et des réactifs,
- Éliminer les réactifs restants et les déchets conformément aux réglementations en vigueur,
- Lire attentivement toutes les instructions indiquées avant d'exécuter le test,
- Lors de l'exécution du test, suivre les instructions fournies avec le produit,
- Ne pas utiliser le produit au-delà de la date de péremption indiquée,
- Utiliser uniquement les réactifs fournis avec le produit et ceux recommandés par le fabricant,
- Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents,
- Ne pas utiliser de réactifs commercialisés par d'autres fabricants.

7.2 Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

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

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

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

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

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

7.3 Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Tableau 2

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

8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

8.1 Échantillons et protocoles de test

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

Tableau 3

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

EDTA, acide éthylènediaminetétraacétique

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

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

Tableau 4 Protocoles de test pour le Parvovirus B19 ELITE MGB Kit

Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
Sang total	ELITE InGenius	PVB19 ELITE_WB_200_100	copies/mL ou UI/ mL	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITE BeGenius	PVB19 ELITE_Be_WB_200_100	copies/mL ou UI/ mL	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL 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	PVB19 ELITE_AF_200_100	copies/mL ou UI/ mL	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITE BeGenius	PVB19 ELITE_Be_AF_200_100	copies/mL ou UI/ mL	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL

UI, unités internationales

NOTE!

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

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

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

NOTE!

Le pipetage des échantillons dans le **tube d'extraction** ou le **tube Sarstedt de 2 mL** peut **entraîner une contamination**. Utiliser les pipettes appropriées et suivre toutes les recommandations indiquées à la section 7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS page 6.

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

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

8.2 Calibrateurs et contrôles de la PCR

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

- Pour la courbe d'étalonnage, utiliser les quatre niveaux du produit **Parvovirus B19 ELITE Standard** (non inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **PVB19 ELITE_STD** ou **PVB19 ELITE_Be_STD**.

NOTE!

Les concentrations des étalons Q – PCR Standards sont exprimées en copies/réaction (10⁵ copies/réaction, 10⁴ copies/réaction, 10³ copies/réaction, 10² copies/réaction). Se reporter au paragraphe « Incertitude de la courbe d'étalonnage » de la section 11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 24

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 protocoles de test (Assay Protocols) **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 protocoles de test (Assay Protocols) **PVB19 ELITE_NC** ou **PVB19 ELITE_Be_NC**.

NOTE!

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

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

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

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

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

8.3 Contrôles de qualité

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

9 PROCÉDURE AVEC LE ELITE InGenius

La procédure d'utilisation du **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

9.1 ÉTAPE 1 – Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

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

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

9.2 ÉTAPE 2 – Paramétrage de la session d'analyse

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

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

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

NOTE!

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

Avant de paramétrer une analyse :

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

NOTE!

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

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

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
1	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.

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR), les cartouches d'extraction ELITe InGenius SP 200, et tous les consommables requis et échantillons à extraire.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes d'élution avec les échantillons extraits.
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
15	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
16	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

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

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

9.3 ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

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

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

NOTE!

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

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

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

9.3.1 Validation de la courbe d'étalonnage

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

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

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

NOTE!

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

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

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

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

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

Le **ELITE InGenius Software** traite les résultats du Contrôle positif (Positive Control) et du Contrôle négatif (Negative Control) et génère des Graphiques de contrôle (Control Charts). L'approbation du Contrôle positif est basée sur l'évaluation de la quantité logarithmique obtenue qui doit se situer dans la plage de quantité logarithmique attendue (Graphique PC). Ceci permet de s'assurer que les performances du système sont conformes aux critères d'acceptation. Le deuxième graphique (Graphique L-J) est exclusivement consacré à la surveillance de la tendance du Contrôle positif au cours du temps. Pour plus de détails, se reporter au manuel de l'instrument.

NOTE!

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

NOTE!

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

9.3.3 Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELITE InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible (canal **PVB19**) et le Contrôle interne (canal **IC**) avec les paramètres de protocole de test (Assay Protocol) **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 logiciel **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 ou UI/mL)	L'ADN du PVB19 a été détecté dans l'échantillon ; sa concentration est inférieure à la limite inférieure de quantification de l'analyse.
PVB19:DNA Detected, quantity beyond ULoQ copies/mL or IU/mL (PVB19:ADN détecté, quantité supérieure à « ULoQ » copies/mL ou UI/mL)	L'ADN du PVB19 a été détecté dans l'échantillon ; sa concentration est supérieure à la limite supérieure de quantification de l'analyse.
PVB19:DNA Not detected or below LoD copies/mL or UI/mL (PVB19:ADN non détecté ou inférieur à « LoD » copies/mL ou UI/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 de l'analyse.
Invalid-Retest Sample (Non valide-Tester à nouveau l'échantillon)	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Contrôle interne (en raison, par exemple, d'une extraction incorrecte, d'un transfert d'inhibiteurs). Le test doit être répété.

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

S'il reste un volume d'éluat suffisant, l'éluat peut être à nouveau testé (pur ou dilué), par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR seulement). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'un nouvel échantillon en utilisant le mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) (se reporter à la section [14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS page 34](#)).

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 [11 « Caractéristiques de performance » page 24](#)).

Les échantillons positifs pour l'ADN du PVB19 à une concentration inférieure à la limite de détection (et à la limite inférieure de quantification) de l'analyse, s'ils sont détectés, sont rapportés comme « PVB19:DNA Detected, quantity below "LLoQ" copies/mL » (PVB19:ADN détecté, quantité inférieure à « LLoQ » copies/mL) (se reporter à la section [11 « Caractéristiques de performance » page 24](#)).

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 11 « Caractéristiques de performance » page 24).

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 de l'analyse (se reporter à la section 11 « Caractéristiques de performance » page 24).

NOTE!

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

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

9.3.4 Rapport des résultats de l'échantillon

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

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

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

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

10 PROCÉDURE AVEC LE ELITE BeGenius

La procédure d'utilisation du **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

10.1 ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

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

valide n'est disponible pour le lot de **PCR Mix**, effectuer un étalonnage comme décrit dans les sections suivantes,

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

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

10.2 ÉTAPE 2 – Paramétrage de la session d'analyse

Le **Parvovirus B19 ELITE MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITE BeGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

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

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

NOTE!

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

Avant de paramétrer une analyse :

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

NOTE!

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

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

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Si requis, transférer 200 µL d'échantillon dans un tube Sarstedt de 2 mL préalablement étiqueté. 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 le tube 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).

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
3	Retirer tous les « Racks » de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
4	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
5	Charger les échantillons dans le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons). (Remarque : lorsque des tubes secondaires « 2 mL Tubes » sont chargés, utiliser les adaptateurs bleus pour le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons).	Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Rack d'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'élué 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.	Non applicable
9	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
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.

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
18	Vérifier les embouts dans le (s) « Tip Rack (s) » (Compartiment(s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans le (s) « Tip Rack (s) » (Compartiment (s) à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le (s) « Tip Rack (s) » si nécessaire.
19	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
20	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
21	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
22	Charger le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITE InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis.	Non applicable
23	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
24	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

	C. Analyse d'étalonnage (PCR Only [PCR seulement])	D. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
1	Décongeler les tubes de Q-PCR Standard nécessaires (Cal1 : Q-PCR Standard 10 ² , Cal2 : Q-PCR Standard 10 ³ , Cal3 : Q-PCR Standard 10 ⁴ , Cal4 : Q-PCR Standard 10 ⁵) à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Contrôle positif à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Préparer le Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élution) fourni avec le ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
2	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
4	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
5	Charger les tubes de Q-PCR Standard dans le « Elution Rack » (Rack d'élution).	Charger les tubes de 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	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
9	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
10	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).
11	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).
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiment à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer le(s) « Tip Rack(s) » si nécessaire.
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
15	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
16	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

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

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

10.3 ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

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

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

NOTE!

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

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

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

NOTE!

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

11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

11.1 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.

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.

Tableau 5 Limite de détection avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius pour le sang total

Limite de détection pour les échantillons de sang total avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius	
Échantillon	LoD
Sang total prélevé sur EDTA	125 UI/mL
	250 copies/mL

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 en copies/mL est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique (0,5 UI/copie) indiqué au paragraphe [11.10 Facteur de conversion en unités internationales page 30](#).

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), 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.

Tableau 6 Limite de détection avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius pour le liquide amniotique

Limite de détection pour les échantillons de liquide amniotique avec le ELITE InGenius			
Cible	LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
PVB19	40 UI/mL	24 UI/mL	51 UI/mL
	40 copies/mL	24 copies/mL	51 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 « [11.10 Facteur de conversion en unités internationales page 30](#) ».

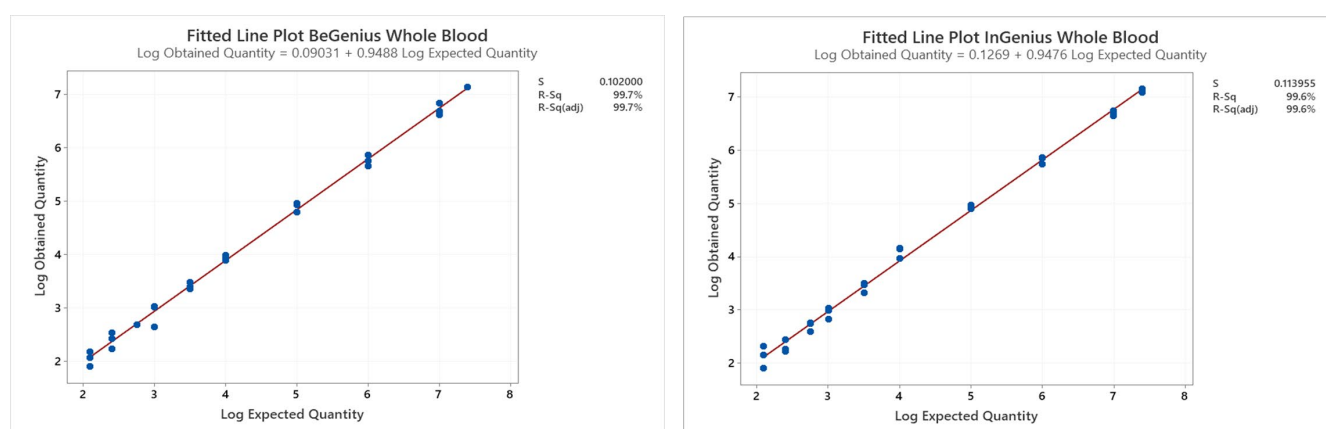
La valeur de la LoD calculée a été vérifiée sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius en testant un pool d'échantillons de liquide amniotique dopés avec un matériel de référence certifié du PVB19 (3^e étalon international de l'OMS, NIBSC) à la concentration revendiquée.

11.2 Plage de mesure linéaire et limites de quantification

La plage de mesure linéaire du test a été déterminée sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** en association avec des échantillons de sang total prélevé sur EDTA et de liquide amniotique en utilisant un panel de matériels de référence du PVB19 (NATtrol™ Human Parvovirus B19 Strain inactivated virus, ZeptoMetrix) en association avec du sang total prélevé sur EDTA ; et (Human Parvovirus Strain: B19 Concentrate 1mL, ZeptoMetrix) en association avec du liquide amniotique, dans des matrices négatives pour l'ADN du PVB19.

Les résultats de chaque matrice sont présentés aux paragraphes suivants.

Sang total prélevé sur EDTA

**Fig. 1**

La plage de mesure linéaire, exprimée en copies/mL pour le sang total prélevé sur EDTA, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué à la section [11.10 Facteur de conversion en unités internationales page 30](#)

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 7 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

Liquide amniotique

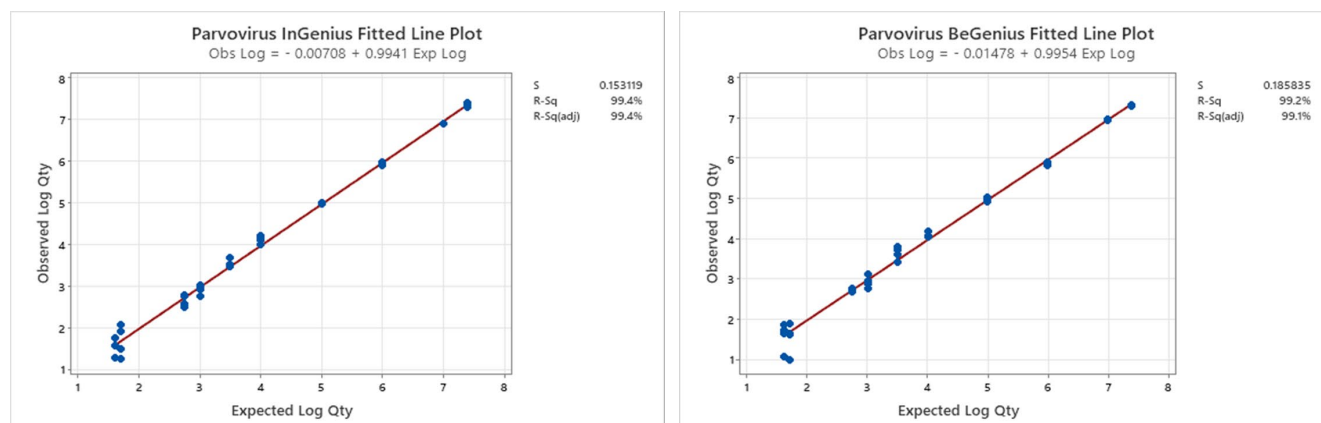


Fig. 2

La plage de mesure linéaire, exprimée en copies/mL pour le liquide amniotique, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué à la section [11.10 Facteur de conversion en unités internationales](#) page 30.

Les résultats finaux sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 8 Plage de mesure linéaire pour les 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

11.3 Incertitude de la courbe d'étalonnage

La valeur d'incertitude de la courbe d'étalonnage a été calculée en combinant les erreurs aléatoires (EC) de toutes les quantifications de niveau et en multipliant le résultat par le facteur de couverture $k = 2$ (incertitude combinée élargie). Celle-ci est de 0,2535 Log copies/réaction.

Tableau 9 Incertitude de la courbe d'étalonnage

Niveaux de la courbe d'étalonnage	Théorique	Mesuré	EC	Incertitude combinée élargie
	Log copies/réaction	Log copies/réaction		
PVB19Q - PCR Standard 10^5	5,0000	4,9961	0,0539	0,2535
PVB19Q - PCR Standard 10^4	4,0000	4,0176	0,0783	
PVB19 Q - PCR Standard 10^3	3,0000	2,9765	0,0548	
PVB19Q - PCR Standard 10^2	2,0000	2,0098	0,0635	

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

L'inclusivité du test, en tant qu'efficacité de détection de différentes souches du PVB19, a été évaluée par une analyse *in silico* des séquences disponibles dans les bases de données de nucléotides. L'analyse a montré une conservation des séquences et une absence de mutations significatives. En conséquence, on s'attend à ce que les différentes souches ou isolats soient efficacement détectés.

11.5 Organismes potentiellement interférents : réactivité croisée

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

11.6 Organismes potentiellement interférents : inhibition

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

11.7 Substances potentiellement interférentes : inhibition

L'inhibition potentielle du test exercée par des substances interférentes (endogènes et exogènes) qui pourraient être présentes dans des échantillons cliniques a été évaluée par l'analyse d'un panel de substances à une concentration pertinente dans des échantillons positifs pour le PVB19.

Les résultats de chaque matrice sont présentés dans les tableaux suivants.

Tableau 10 sang total prélevé sur EDTA

Échantillon	PVB19 Pos./Rép.	Résultat
Éthanol	5/5	Aucune inhibition
Azithromycine	5/5	Aucune inhibition
Ampicilline	5/5	Aucune inhibition
Vancomycine	5/5	Aucune inhibition
Ganciclovir	5/5	Aucune inhibition
Acyclovir	5/5	Aucune inhibition
Fluconazole	5/5	Aucune inhibition
Cyclosporine A	5/5	Aucune inhibition
EDTA	5/5	Aucune inhibition
Héparine	5/5	Aucune inhibition

Les substances testées n'entraînent aucune interférence avec l'amplification du PVB19 ou du Contrôle interne en utilisant le Parvovirus B19 ELITe MGB Kit avec des échantillons de sang total prélevé sur EDTA.

Tableau 11 liquide amniotique

Échantillon	PVB19 Pos./Rép.	Résultat
Azithromycine	5/5	Aucune inhibition
Acyclovir	5/5	Aucune inhibition
Sang total humain	5/5	Aucune inhibition

Les substances testées n'entraînent aucune interférence avec l'amplification du PVB19 ou du Contrôle interne en utilisant le Parvovirus B19 ELITe MGB Kit avec des échantillons de liquide amniotique.

11.8 Répétabilité

La répétabilité intra-session et inter-sessions du test a été évaluée sur les instruments 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.

Tableau 12 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 %

Tableau 13 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.

Tableau 14 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 %

Tableau 15 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) inférieure à 5 %.

11.9 Reproductibilité

La reproductibilité inter-instruments et inter-lots du test a été évaluée sur les instruments 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.

Tableau 16 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 %

Tableau 17 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 différents) est présenté dans les tableaux ci-dessous :

Tableau 18 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 %

Tableau 19 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) inférieure à 5 %.

11.10 Facteur de conversion en unités internationales

Le facteur de conversion (Fc), permettant d'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.

Tableau 20 Calcul du facteur de conversion en unités internationales avec le ELITE InGenius

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.

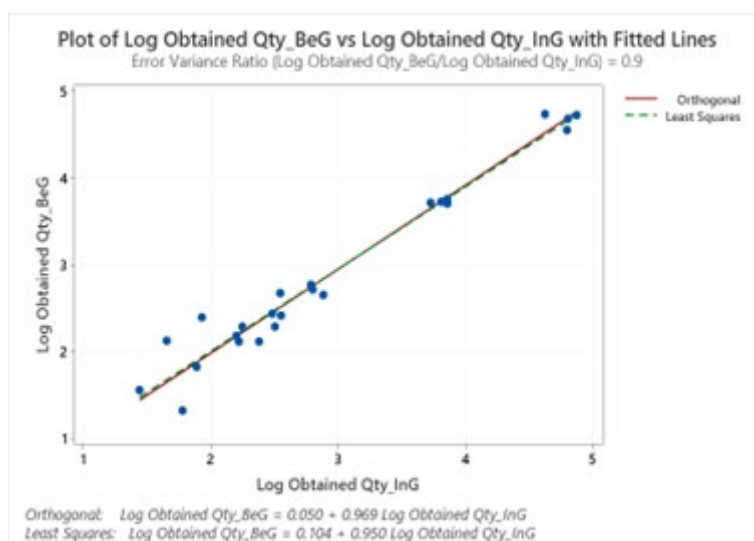


Fig. 3

L'analyse de régression orthogonale a généré 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 génèrait 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.

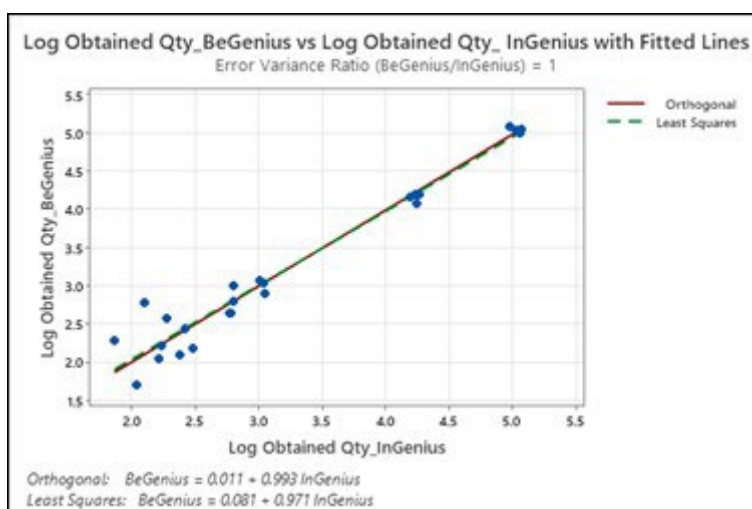
Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 21 Calcul du facteur de conversion en unités internationales avec le ELITe InGenius

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 exclu 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.

**Fig. 4**

L'analyse de régression orthogonale génère 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 a généré un R² de 0,957.

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

Tableau 22 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

11.11 Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons négatifs, a été évaluée en association avec le ELITE InGenius en analysant des échantillons cliniques de sang total prélevé sur EDTA et de liquide amniotique, certifiés négatifs ou présumés 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.

Tableau 23 Spécificité diagnostique

Échantillons	N	Positif	Négatif	Spécificité diagnostique (%)
sang total prélevé sur EDTA négatif pour l'ADN du PVB19	53	0	53	100
liquide amniotique négatif pour l'ADN du PVB19	70	0	70	100

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

11.12 Sensibilité diagnostique : confirmation des échantillons positifs

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en association avec le ELITE InGenius en analysant des échantillons cliniques 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.

Tableau 24 Sensibilité diagnostique

Échantillons	N	Positifs	Négatifs	Sensibilité diagnostique (%)
Sang total prélevé sur EDTA positif pour l'ADN du PVB19	51	51	0	100
Liquide amniotique dopé avec le PVB19	56	56	0	100

NOTE!

Les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et les instruments sont présentés dans la Fiche technique du produit « PARVOVIRUS ELITE MGB® Kit », FTP 070PLD.

12 BIBLIOGRAPHIE

F. McOmish et al. (1993) J. Clin. Microbiol. 31: 323 - 328.

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

C. N. Kotton et al. (2025) Transplantation 109: 1066-1110

13 LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser exclusivement ce produit avec les échantillons cliniques suivants : sang total 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 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.

14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Tableau 25

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 Positive Control. Vérifier les volumes du PCR Mix, des étalons Q-PCR Standards et du Positive Control.
Dégradation du PCR Mix.	Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 5 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de stockage] ou dans la Cooler Unit). Ne pas utiliser le 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 Positive Control.	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 Positive Control pendant plus de 4 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans la « Extraction Area » [Zone d'extraction] ou dans la Cooler Unit). Utiliser de nouvelles aliquotes des étalons Q-PCR Standards ou du Contrôle positif.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 26

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

Tableau 27

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix, du Internal Control et de l'échantillon. Vérifier les volumes du PCR Mix, du Internal Control et de l'échantillon.
Dégradation du PCR Mix.	Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 5 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans 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 Internal Control.	Utiliser une nouvelle aliquote du Internal Control.
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.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 28

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 Positive Control.	Vérifier que la valeur Ct de la cible est inférieure à 30. Une grande quantité de produit d'amplification à la fin de la réaction peut interférer avec l'analyse de la courbe de fusion. Répéter l'amplification de l'échantillon pour confirmer la présence d'une cible comportant une éventuelle mutation. La cible dans l'échantillon doit être séquencée pour confirmer la mutation.

Tableau 29

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

Tableau 30

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.
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.

15 LÉGENDE DES SYMBOLES



Numéro de référence.



Limite supérieure de température.



Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.



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



Identifiant unique de dispositif



Contenu suffisant pour << N >> tests.



Consulter le mode d'emploi.



Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

16 AVIS AUX UTILISATEURS

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

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

17 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

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

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

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

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

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, the ELITe MGB® logo, ELITe InGenius® and ELITe BeGenius® sont des marques déposées d'ELITechGroup au sein de l'Union européenne.
Minitip Flocked Swab® est une marque déposée de COPAN Italia S.p.A., FecalSwab™ est une marque de commerce de COPAN Italia S.p.A.

Appendix A Parvovirus B19 ELITe MGB Kit utilisé en association avec les plateformes Genius series ®



ATTENTION

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

Application

Le produit **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 quantitatif de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la **détection et la quantification de l'ADN du parvovirus B19 humain (PVB19)**, extrait d'échantillons cliniques.

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

Ce produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic et à la surveillance des infections par le parvovirus B19 chez les patients suspectés de présenter une infection ou surveillés pour une infection par le parvovirus B19.

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

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

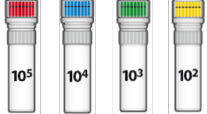
Séquence amplifiée

Séquence	Gène	Fluorophore	Canal
Cible	protéine de capsid VP1	FAM	PVB19
Contrôle interne	Gène de la bêta-globine humaine	AP525	IC

Matrices validées

- Sang total prélevé sur EDTA
- Liquide amniotique

Contenu du kit et produits associés

PARVOVIRUS ELITe MGB Kit	PARVOVIRUS ELITe Standard	PARVOVIRUS- ELITe Positive Control
 X 4	 X 2	 X 2
PCR Mix prêt à l'emploi 4 tubes de 540 µL 96 réactions par kit 5 cycles de congélation/décongélation	4 niveaux prêts à l'emploi : 10 ⁵ , 10 ⁴ , 10 ³ , 10 ² 1 jeux de 4 tubes de 200 µL 4 réactions par kit 4 cycles de congélation/décongélation	CP prêt à l'emploi : 2 tubes de 160 µL 8 réactions par kit 4 cycles de congélation/décongélation

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

Autres produits requis non inclus dans le kit

- Instrument ELITe InGenius : INT030. - Instrument ELITe BeGenius : INT040. - ELITe InGenius SP 200 : INT032SP200.	- CPE – Internal Control : CTCRCPE - Consommables pour les ELITe InGenius et ELITe BeGenius (se reporter au mode d'emploi des instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius)
--	--

Protocole ELITe InGenius et ELITe BeGenius

- Volume d'échantillon - Volume de CPE - Volume d'élution total	200 µL 10 µL 100 µL	- Volume initial d'éluat de PCR - Volume de PCR Mix - Fréquence des contrôles	20 µL 20 µL 15 jours
---	---	---	--

Performances de ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Matrice	Limite de détection		Sensibilité diagnostique	Spécificité diagnostique
	UI/mL	copies/mL		
sang total	125	250	100 %	100 %
liquide amniotique	40	40	100 %	100 %

Préparation de l'échantillon

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

Tableau 31

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

Procédures ELITe InGenius

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

Avant l'analyse

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile	2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », élution : « 100 µL »	3. Scanner les codes-barres des échantillons à l'aide du lecteur de codes-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : PVB19 ELITe_WB_200_100 ou PVB19 ELITe_AF_200_100	5. Sélectionner la méthode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) et la position de l'échantillon : Tube primaire ou Tube d'extraction	6. Charger le PCR Mix et le Internal Control (Contrôle interne) dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7. Charger : la PCR Cassette (Cassette de PCR), la cartouche d'extraction, le tube d'élution, la cassette à embouts, les racks de tubes d'extraction et les compartiments des échantillons primaires	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

NOTE!

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile	2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », élution : « 100 µL »	3. Scanner les code-barres des échantillons à l'aide du lecteur de code-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : PVB19 ELITE_PC et PVB19 ELITE_NC, ou PVB19 ELITE_STD ou PVB19 ELITE_WB_200_100 ou PVB19 ELITE_AF_200_100	5. Sélectionner la méthode « PCR Only » (PCR seulement) et la position de l'échantillon « Elution Tube » (Tube d'élution)	6. Charger le PCR Mix dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7. Charger : le rack de PCR Cassette (Cassette de PCR) et le rack de tubes d'élution avec l'acide nucléique extrait	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

Procédures ELITE BeGenius

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

Avant l'analyse

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile puis cliquer sur le mode d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR)	2. Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) avec les échantillons à code-barres dans la Cooler Unit. La lecture des code-barres est déjà active	3. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », Éluat : « 100 µL »
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt PVB19 ELITE_Be_WB_200_100 ou PVB19 ELITE_Be_AF_200_100 Remarque : Si une deuxième extraction est exécutée, répéter les étapes 2 à 4	5. Imprimer les étiquettes à code-barres pour les apposer sur les tubes d'élution vides. Charger les tubes dans le « Elution Rack » (Rack d'élution) et insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	6. Charger le PCR Mix et le Internal Control (Contrôle interne) dans le Reagent/Elution Rack (Rack de réactifs/d'élution), puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.
7. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) et le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITE InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

NOTE!

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile	2. Charger les tubes à code-barres contenant les acides nucléiques extraits ou les étalons ou les contrôles dans le « Elution Rack » (Rack d'élution) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	3. Pour les étalons et les contrôles : pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp.Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions). Pour les éluats : pour chaque « Position », saisir le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (volume d'éluat extrait).
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : PVB19 ELITE_Be_PC et PVB19 ELITE_Be_NC, ou PVB19 ELITE_Be_STD ou PVB19 ELITE_Be_WB_200_100 ou PVB19 ELITE_Be_AF_200_100	5. Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	6. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR).
7. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle.	8. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats.	



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