

Instructions for use

Coagulation ELITe MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN



REF RTSD00ING

UDI 08033891486204

CE
0123

IVD

HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Rév.	Avis de modification	Date (jj/mm/aa)
09-R	Correction d'une erreur de typographie dans les tableaux des tests de répétabilité et de reproductibilité et dans le texte d'introduction aux tests : il était incorrectement indiqué que la mutation G1691A était associée au FII au lieu du FV, en étant inversée avec la mutation G20210A.	09/03/26
08-R	Modification dans le produit RTSD00ING relative à la détection en monoplex pour les analytes FII, FV, MTHFR et en duplex pour FII-FV. Extension à 60 jours du délai d'utilisation après la première ouverture Nouveaux graphiques et contenu du mode d'emploi.	27/08/25
07-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). La composition et les CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE du produit restent inchangées.	20/08/24
05	Extension de l'utilisation sur l'instrument ELiTe BeGenius. Description de la valeur seuil de l'IC déjà adoptée dans le protocole de test du produit (section « Concordance diagnostique : confirmation du génotype d'un échantillon certifié »)	30/03/23
04	Actualisation de la valeur Ct de l'IC et de la plage de Tm du Facteur II et du Facteur V	24/05/22
03	indication de conditions plus permissives de stockage des échantillons, en accord avec la littérature disponible et sans incidence sur la sécurité et les performances du produit.	09/03/22
00-02	Développement de nouveaux produits et modifications ultérieures	—

SOMMAIRE

1 APPLICATION	4
2 PRINCIPE DU TEST	4
3 DESCRIPTION DU PRODUIT	4
4 MATÉRIEL FOURNI.....	5
5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	5
6 AUTRES PRODUITS REQUIS.....	5
7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS.....	6
8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES.....	8
9 PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius	10
10 PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius	16
11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	20
12 BIBLIOGRAPHIE	29
13 LIMITES DE LA PROCÉDURE.....	29
14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS	30
15 LÉGENDE DES SYMBOLES	32
16 AVIS AUX UTILISATEURS.....	33
17 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	33
Appendix A QUICK START GUIDE.....	34

1 APPLICATION

Le produit **Coagulation ELiTe MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic in vitro destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test qualitatif de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la discrimination allélique des trois loci suivants :

- gène du Facteur V de la coagulation, polymorphisme d'un seul nucléotide (SNP) G1691A (Leiden),
- gène du Facteur II de la coagulation, SNP G20210A,
- gène 5,10-méthyltétrahydrofolate réductase (MTHFR), SNP C677T.

en monoplex, duplex (FII et FV) ou triplex (FII, FV et MTHFR) dans des échantillons d'ADN génomique humain extraits d'échantillons cliniques.

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

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide à l'évaluation du risque de thrombose veineuse profonde chez les patients présentant une suspicion de trouble de la coagulation et à risque de thrombose veineuse profonde.

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

2 PRINCIPE DU TEST

Le test est une PCR qualitative en temps réel pour la discrimination allélique du gène du Facteur V de la coagulation, polymorphisme d'un seul nucléotide (SNP) G1691A (Leiden), du gène du Facteur II de la coagulation, SNP G20210A, et du gène 5,10-méthyltétrahydrofolate réductase (MTHFR), SNP C677T, dans un ADN isolé à partir d'échantillons et amplifié à l'aide du réactif **52M PCR Mix** du test, qui contient des amorces et des sondes dotées de la technologie ELiTe MGB.

Les sondes ELiTe MGB sont activées lorsqu'elles s'hybrident aux produits de PCR associés. **ELiTe InGenius** et **ELiTe BeGenius** surveille l'augmentation de la fluorescence et calcule les cycles seuils (Ct). À la fin du cycle d'amplification, l'analyse de la courbe de fusion permet d'identifier les températures de fusion des sondes et de détecter la présence d'allèles de type sauvage et/ou mutés.

Dans les sondes ELiTe MGB, les fluorophores sont désactivés lorsque la sonde est à l'état simple brin et enroulée de manière aléatoire. Les fluorophores sont actifs dans le duplex sonde/amplicon étant donné que le désactivateur est spatialement séparé du fluorophore.

Noter que le fluorophore n'est pas clivé pendant la PCR et peut être utilisé pour l'analyse de dissociation et le calcul de la température de fusion.

3 DESCRIPTION DU PRODUIT

Le kit **Coagulation ELiTe MGB Kit** fournit le réactif du test, le **52M PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amorces et les sondes spécifiques pour :

- le gène du Facteur V de la coagulation, région SNP G1691A (Leiden), détecté dans le Canal **FV** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB®, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée par le colorant AquaPhluor® 639 (AP639),
- le gène du Facteur II de la coagulation, région SNP G20210A, détecté dans le Canal **FII** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB®, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant FAM.
- le gène MTHFR, région SNP C677T, détecté dans le canal **MTHFR** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB®, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor® 593 (AP593),
- le Contrôle interne (**IC**), basé sur la séquence du gène de la **β-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 mélange **52M PCR Mix** contient également un tampon, du chlorure de magnésium, des nucléotides triphosphates et l'enzyme ADN polymérase avec activation thermique (Hot start).

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

4 MATÉRIEL FOURNI

Tableau 1

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
52M PCR Mix réf. RTSD00ING	Mélange de réactifs pour la PCR en temps réel dans un tube doté d'un capuchon NATUREL	8 x 280 µL	-

5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

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

6 AUTRES PRODUITS REQUIS

Les réactifs pour l'extraction de l'ADN des échantillons, le contrôle interne d'extraction et d'inhibition, les contrôles positif et négatif d'amplification 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.

Tableau 2

Instruments et logiciel	Produits et réactifs
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S. p. A., EG SpA, réf. INT030) ELiTe InGenius Software version 1.3.0.19 (ou versions ultérieures) 52M ELiTe_PC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Positive Control 52M ELiTe_NC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Negative Control 52M ELiTe_WB_200_200, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total 52M ELiTe_FII_WB_200_200, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total 52M ELiTe_FV_WB_200_200, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total 52M ELiTe_MTHFR_WB_200_200, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total 52M ELiTe_FVFII_WB_200_200, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total	Coagulation - ELiTe Positive Control (EG SpA, réf. CTRD00ING) ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, réf. INT032SP200) Consommables pour ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius (voir le mode d'emploi des instruments ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius)
ELiTe BeGenius (EG SpA, réf. INT040) ELiTe BeGenius Software version 2.3.0 (ou versions ultérieures) 52M ELiTe_Be_PC, Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse du Positive Control 52M ELiTe_Be_NC, Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse du Negative Control 52M ELiTe_Be_WB_200_200, Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total 52M ELiTe_FII_Be_WB_200_200, Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total 52M ELiTe_FV_Be_WB_200_200, Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total 52M ELiTe_MTHFR_Be_WB_200_200, Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total 52M ELiTe_FVFII_Be_WB_200_200, Assay Protocol (Protocole de test) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de sang total	

7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Ce produit est exclusivement réservé à une utilisation in vitro.

7.1 Avertissements et précautions d'ordre général

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

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

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

Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.

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

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

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

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

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

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

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

Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.

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

7.2 Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

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

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

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

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

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

7.3 Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Tableau 3

Composant	Température de stockage	Utilisation après la première ouverture	Cycles de congélation/décongélation	Stabilité à bord de l'instrument (ELITe InGenius et ELITe BeGenius)
52M PCR Mix	-20 °C ou température plus basse (à l'abri de la lumière)	60 jours	jusqu'à sept	jusqu'à sept 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 laboratoire, et prélevés, transportés et conservés dans les conditions suivantes :

Tableau 4

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Sang total	EDTA	≤ 3 j	≤ 7 j	≤ 30 j	≤ 1 an

EDTA, acide éthylènediaminetétraacétique ; j, jours.

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

Utiliser les 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 l'instrument **ELITe InGenius** ou l'instrument **ELITe BeGenius** avec les matrices indiquées.

Tableau 5 Protocoles de test pour leCoagulation ELITe MGB Kit

Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
Sang total prélevé sur EDTA	ELITe InGenius	52M ELITe_WB_200_200 52M ELITe_FII_WB_200_200 52M ELITe_FV_WB_200_200 52M ELITe_MTHFR_WB_200_200 52M ELITe_FVFII_WB_200_200	Type sauvage/hétérozygote/homozygote	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 200 µL Contrôle Interne : NON Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITe BeGenius	52M ELITe_Be_WB_200_200 52M ELITe_FII_Be_WB_200_200 52M ELITe_FV_Be_WB_200_200 52M ELITe_MTHFR_Be_WB_200_200 52M ELITe_FVFII_Be_WB_200_200	Type sauvage/hétérozygote/homozygote	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 200 µL Contrôle interne : NON Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL

NOTE!

Vérifier si le tube primaire et le volume de l'échantillon sont compatibles avec les instruments ELITe InGenius ou 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 l'instrument ELITe InGenius) ou un tube Sarstedt de 2 mL (pour l'instrument 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 AVER- TISSEMENTS 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 20 pour vérifier les informations concernant les substances interférentes.

8.2 Contrôles de la PCR

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

- Pour le Positive Control, utiliser le produit **Coagulation - ELITe Positive Control** (non inclus dans ce kit) avec le protocole de test (Assay Protocol) **52M ELITe_PC** ou **52M ELITe_Be_PC**.
- Pour le Negative Control, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) avec le protocole de test (Assay Protocol) **52M ELITe_NC** ou **52M ELITe_Be_NC**.

NOTE!

Les **ELiTe InGenius** et **ELiTe BeGenius** permettent de générer et de stocker la validation des contrôles de la PCR pour chaque lot de réactifs de PCR. Les résultats des contrôles de la PCR expirent au bout de **15 jours**, après quoi il est nécessaire de réanalyser les Negative Controls. Les contrôles de la PCR doivent être à nouveau exécutés si une des situations suivantes se produit :

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

8.3 Contrôles de qualité

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

9 PROCÉDURE AVEC LE ELiTe InGenius

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

Tableau 6

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

9.1 ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre le **ELiTe InGenius** en marche et se connecter en mode « **CLOSED** » (FERMÉ),
- dans le menu « 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,
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et en utilisant les protocoles de test (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 **Coagulation ELiTe MGB Kit** peut être utilisé sur l'instrument **ELiTe InGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

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

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

C. Analyse 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 **12 tests** dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement, puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes et conserver les tubes sur de la glace ou 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 trois types d'analyse, suivre les étapes ci-dessous tout en se reportant à la GUI

Tableau 7

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante. Si requis, transférer 200 µL d'échantillon dans un tube d'extraction préalablement étiqueté.	Décongeler les tubes d'élution contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Positive Control 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 4 réactions.) Préparer le Negative Control 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).	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 200 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 200 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 200 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.	Non applicable

Tableau 7 (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
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 »).	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 Positive Control et de l'eau de qualité biologie moléculaire.
6	Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).
7	Sélectionner la position de chargement de l'échantillon en tant que « Extraction Tube » (Tube d'extraction) ou « Primary tube » (Tube primaire) dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons).	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'éluion [ligne du bas]).	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'éluion [ligne du bas]).
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9	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, la date de péremption et le nombre de réactions pour chaque tube du PCR Mix.	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, la date de péremption et le nombre de réactions pour chaque tube du PCR Mix.	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, la date de péremption et le nombre de réactions pour chaque tube du PCR Mix.
10	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	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.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
12	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR), les cartouches d'extraction ELITe InGenius SP 200, et tous les consommables requis et échantillons à extraire.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes d'éluion avec les échantillons extraits.	Charger les tubes de PCR Cassette , Positive Control et Negative Control.
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	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.	Fermer le tiroir de l'instrument.
16	Appuyer sur « Start » (Début).	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 (pour 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune plus la 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, 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.

9.3 ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

L'instrument **ELiTe InGenius** surveille les signaux de fluorescence de la cible et du Internal Control pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) pour générer des courbes de PCR qui sont ensuite interprétées en résultats.

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

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 **Coagulation ELiTe MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

1. validation des résultats de Positive Control et Negative Control,
2. validation des résultats des échantillons,
3. rapport des résultats de l'échantillon.

9.3.1 Validation des résultats d'amplification de Positive Control et Negative Control,

Le **ELiTe InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour les cibles 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 et de Tm résultantes sont utilisées pour vérifier le système (lot de réactifs et instrument).

Les résultats du Positive Control et du Negative Control, 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 Positive Control et du Negative Control expirent **au bout de 15 jours**.

Les résultats de l'amplification du Positive Control et du Negative Control sont utilisés par le logiciel **ELiTe InGenius** pour paramétrer les Control Charts (Graphiques de contrôle) surveillant l'exécution des étapes de l'amplification. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

NOTE!

Si le Positive Control ou Negative Control ne répond pas aux critères d'acceptation, le message « Failed » (Échec) s'affiche dans l'écran « Calibration » (calibrage). Dans ce cas, les résultats ne peuvent pas être approuvés et les analyses du Positive Control ou Negative Control doivent être répétées.

NOTE!

Si le résultat du Positive Control or Negative Control 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.

9.3.2 Validation des résultats de l'échantillon

Le logiciel **ELiTe InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour les cibles (canaux **FV**, **FII**, **MTHFR**) et le Contrôle interne (canal IC) avec les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) **52M ELiTe_WB_200_200**, **52M ELiTe_FII_WB_200_200**, **52M ELiTe_FV_WB_200_200**, **52M ELiTe_MTHFR_WB_200_200** ou **52M ELiTe_FVFII_WB_200_200**.

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

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

Tableau 8

1) Positive Control	Statut
52M Positive Control	APPROUVÉ
2) Negative Control	Statut
52M Negative Control	APPROUVÉ

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

Pour chaque échantillon, le système génère une combinaison des messages suivants spécifiant si les allèles des cibles sont discriminés, en fonction du protocole de test (Assay Protocol) sélectionné (monoplex, duplex ou triplex).

Tableau 9

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
FV:Wild-type for Factor V (FV : type sauvage pour le Facteur V)	L'échantillon possède un génotype de type sauvage pour le locus du SNP G1691A du Facteur V.
FV:Heterozygous for Factor V Leiden (FV : hétérozygote pour le Facteur V Leiden)	L'échantillon possède un génotype hétérozygote muté (Leiden) pour le locus du SNP G1691A du Facteur V.
FV:Homozygous for Factor V Leiden (FV : homozygote pour le Facteur V Leiden)	L'échantillon possède un génotype homozygote muté (Leiden) pour le locus du SNP G1691A du Facteur V.

Tableau 9 (continued)

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
FII:Wild-type for Factor II (FII : type sauvage pour le Facteur II)	L'échantillon possède un génotype de type sauvage pour le locus du SNP G20210A du Facteur II.
FII:Heterozygous for Factor II 20210A (FII : hétérozygote pour le Facteur II 20210A)	L'échantillon possède un génotype hétérozygote muté (20210A) pour le locus du SNP G20210A du Facteur II.
FII: Homozygous for Factor II 20210A (FII : homozygote pour le Facteur II 20210A)	L'échantillon possède un génotype homozygote muté (20210A) pour le locus du SNP G20210A du Facteur II.
MTHFR:Wild-type for MTHFR (MTHFR : type sauvage pour MTHFR)	L'échantillon possède un génotype de type sauvage pour le locus du SNP C677T de la MTHFR.
MTHFR:Heterozygous for MTHFR 677T (MTHFR : hétérozygote pour la MTHFR 677T)	L'échantillon possède un génotype hétérozygote muté (677T) pour le locus du SNP C677T de la MTHFR.
MTHFR:Homozygous for MTHFR 677T (MTHFR : homozygote pour la MTHFR 677T)	L'échantillon possède un génotype homozygote muté (677T) pour le locus du SNP C677T de la MTHFR.
IC:Valid Sample (IC : échantillon valide)	L'échantillon possède une valeur Ct pour l'IC inférieure à 26,5 ; il est donc valide
Inconclusive-Retest Sample (Non concluant - Tester à nouveau l'échantillon)	Résultat du test non concluant en raison d'un problème avec l'échantillon.
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.

Les échantillons rapportés comme « Inconclusive-Retest Sample » (Non concluant - Tester à nouveau l'échantillon) ne sont pas appropriés pour l'interprétation des résultats. Cela signifie qu'il n'a pas été possible de détecter la température de fusion (T_m) des allèles de type sauvage et mutés. Dans ce cas, l'analyse de la courbe de dissociation n'a pas été efficacement réalisée en raison de problèmes avec l'échantillon (contamination par des inhibiteurs dans l'éluat ou présence d'autres SNP interférents), ce qui peut générer des résultats incorrects.

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 30**).

NOTE!

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

NOTE!

Lors de l'approbation des résultats du test, toujours vérifier le résultat de l'instrument en examinant les tracés des courbes de fusion dans le rapport de la session de travail. Les températures de fusion (T_m) des allèles de type sauvage ou mutés de chaque gène analysé doivent correspondre aux pics présents dans les tracés des courbes de fusion.

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).

9.3.3 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 **Coagulation ELITE MGB Kit** avec le **ELITE BeGenius** comporte trois étapes :

Tableau 10

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 du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
ÉTAPE 3	Examen et approbation des résultats	1) Validation des résultats du Positive Control et du Negative Control
		2) Validation des résultats des échantillons
		3) Rapport des résultats de l'échantillon

10.1 ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre le ELITE BeGenius en marche et se connecter en mode « **CLOSED** » (FERMÉ),
- dans le menu « 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,
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et l'utilisation des 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 **Coagulation ELITE MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITE BeGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

- une analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- une analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement]),
- une analyse (PCR Only [PCR seulement]) Positive Control et Negative Control.

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 12 tests dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement, puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes et conserver les tubes sur de la glace ou un bloc de froid.

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 trois types d'analyse, suivre les étapes ci-dessous tout en se reportant à la GUI :

Tableau 11

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante. Si requis, transférer 200 µL d'échantillon dans un tube Sarstedt de 2 mL préalablement étiqueté.	Décongeler les tubes d'élution contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Positive Control à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer 4 réactions. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Préparer le Negative Control 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).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3	Retirer tous les « Racks » de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	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).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
5	Charger les échantillons dans le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons). Lorsque des tubes secondaires « 2 mL Tubes » sont chargés, utiliser les adaptateurs bleus pour le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons).	Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Rack d'élution).	Charger les tubes Positive Control et Negative Control dans le « Elution Rack » (Portoir d'élution).

Tableau 11 (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
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 code-barres, saisir manuellement le « Sample ID » [ID échantillon]).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (Volume d'élution de l'extraction) (volume d'éluat) et le « Internal Control » (Contrôle interne).	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.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
8	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 200 µL.	Non applicable	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 »).	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.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
	NOTE! En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6.		Non applicable
11	Charger les « Elution tubes » (Tubes d'élution) dans le « Elution Rack » (Rack d'élution) (les tubes d'élution peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité).	Non applicable	Non applicable
12	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure en utilisant la « Lane 2 » (L2).	Non applicable	Non applicable
13	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Non applicable	Non applicable
14	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).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).

Tableau 11 (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
15	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque réactif 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) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque réactif 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) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque réactif 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).
16	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
17	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.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
18	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
19	Charger le « PCR Rack » avec la « PCR Cassette » dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » avec la « PCR Cassette » dans la « Inventory Area » (Zone de stockage).	Charger le « PCR Rack » avec la « PCR Cassette » dans la « Inventory Area » (Zone de stockage).
20	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
21	Charger le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITe InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis.	Non applicable	Non applicable
22	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
23	Appuyer sur « Start » (Début).	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 plus la 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, 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

L'instrument **ELITe BeGenius** surveille les signaux de fluorescence de la cible et du Internal Control pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) pour générer des courbes de PCR qui sont ensuite interprétées en résultats.

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

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 **Coagulation ELITe MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

1. validation des résultats de Positive Control et Negative Control,
2. validation des résultats des échantillons,
3. rapport des résultats de l'échantillon.

NOTE!

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

11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du kit Coagulation ELITe MGB Kit a été définie sur l'instrument ELITe InGenius, en mode PCR Only (PCR seulement), et a été vérifiée sur l'instrument ELITe BeGenius, en mode PCR Only (PCR seulement) en testant trois échantillons (type sauvage, hétérozygote et homozygote) en 4 réplicats, à hauteur d'environ 70 ng par réaction, dopés avec des panels d'ADN génomique humain certifié pour le Facteur V et le Facteur II (Réactif de référence pour le Facteur V Leiden, ADN_g humain, 1er panel de référence génétique international, NIBSC, Royaume-Uni, code 04/224, et Réactif de référence de l'OMS pour la mutation G20210A de la prothrombine, ADN_g humain, 1er panel de référence génétique international, NIBSC, Royaume-Uni, code 05/130).

La sensibilité analytique de ce test permet d'identifier la présence d'environ 20 000 molécules d'ADN cible (correspondant aux génomes d'environ 10 000 cellules ou environ 70 ng d'ADN génomique humain) dans 20 µL d'ADN extrait dans la réaction.

Efficacité de détection (inclusivité)

L'inclusivité du test, en tant qu'efficacité de détection pour les gènes du Facteur V, du Facteur II et MTHFR, a été évaluée par une analyse *in silico*. L'analyse a montré un niveau élevé de conservation des séquences et une absence de mutations significatives. On peut donc escompter une amplification et une détection efficaces.

Les sondes fluorescentes permettent de détecter les allèles des gènes du Facteur V, du Facteur II et de la MTHFR indiqués dans le tableau suivant. Les limites des intervalles de T_m associés pour les instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius ont été calculées en analysant les données obtenues dans les études de vérification et de validation, et les plages de T_m utilisées sont indiquées dans le tableau suivant.

Tableau 12

Gène	Allèle détecté	Plage de T _m	
		ELITe InGenius	ELITe BeGenius
Facteur V	Allèle 1691G (type sauvage)	53,0 °C-57,0 °C	52,5 °C-56,5 °C
	Allèle 1691A (muté, Leiden)	61,0 °C-65,0 °C	59,5 °C-63,5 °C
Facteur II	Allèle 20210G (type sauvage)	56,0 °C-61,0 °C	55,0 °C-60,0 °C
	Allèle 20210A (muté)	64,0 °C-69,0 °C	63,0 °C-68,0 °C
MTHFR	Allèle MTHFR 677C (type sauvage)	55,0 °C-59,0 °C	54,0 °C-58,0 °C
	Allèle MTHFR 677T (muté)	64,0 °C-68,0 °C	63,0 °C-67,0 °C

Spécificité analytique

La spécificité analytique de ce test, en tant que capacité à ne pas identifier le gène muté pour le SNP C20209T pour le Facteur II muté pour le SNP G20210A, a été vérifiée en utilisant un ADN plasmidique contenant l'amplicon du Facteur II avec un nucléotide de type sauvage (G) à la position 20210 et le nucléotide mutant (T) à la position 20209.

De plus, la spécificité analytique a été vérifiée pour les SNP peu fréquents suivants décrits dans la littérature scientifique. Ce sont des SNP rares qui sont localisés à proximité des SNP d'intérêt :

Tableau 13

Gène	SNP rare analysé
Facteur V	G1689A, C1690T, A1692C, A1696G
Facteur II	A20207C, A20218G, T20219A, C20221T
MTHFR	C678A, G679A, C684G

La spécificité analytique a été vérifiée en utilisant des ADN plasmidiques contenant la région amplifiée des gènes du Facteur V, du Facteur II et MTHFR avec un nucléotide de type sauvage dans les SNP d'intérêt et le nucléotide mutant dans les SNP rares analysés.

Des échantillons simulés contenant environ 80 000 copies d'ADN plasmidique ont été testés en 6 réplicats (et 24 réplicats pour le SNP C20209T) sur l'instrument ELITe InGenius. Les réplicats ont généré un résultat « Inconclusive » (Non concluant) ou ont été correctement déterminés. Aucun échantillon muté pour les SNP analysés n'a généré de résultat hétérozygote ou homozygote muté pour les SNP d'intérêt.

Les SNP rares localisés dans la région d'hybridation de la sonde peuvent interférer avec la détection du SNP d'intérêt et peuvent générer un résultat de « faux mutant homozygote » s'ils surviennent simultanément avec la mutation du SNP d'intérêt sur l'autre allèle.

Organismes potentiellement interférents : réactivité croisée

La réactivité croisée potentielle du test avec d'autres organismes indésirables pouvant être présents dans des échantillons cliniques de sang total a été évaluée par une analyse *in silico* des séquences disponibles dans les bases de données de nucléotides. L'analyse a montré une absence d'homologies significatives. En conséquence, on ne s'attend à aucune réactivité croisée par des organismes potentiellement interférents.

Organismes potentiellement interférents : inhibition

La potentielle inhibition par d'autres organismes indésirables pouvant être présents dans des échantillons cliniques de sang total a été évaluée par une analyse *in silico* des séquences disponibles dans les bases de données de nucléotides.

L'analyse a montré une absence d'homologies significatives. En conséquence, on ne s'attend à aucune inhibition par des organismes potentiellement interférents.

Substances interférentes

L'effet de substances potentiellement interférentes a été évalué en analysant un échantillon de sang total prélevé sur EDTA, hétérozygote pour les trois gènes d'intérêt, dopé avec les substances potentiellement interférentes suivantes à la concentration pertinente :

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 14

Échantillon	Génotype FV hétérozygote/FII hétérozygote/MTHFR hétérozygote	Résultat
Contrôle	3/3	Aucune interférence
Cyclosporine A	3/3	Aucune interférence
Ganciclovir	3/3	Aucune interférence
Héparine	3/3	Aucune interférence
EDTA	3/3	Aucune interférence
Ibuprofène	3/3	Aucune interférence
Triglycérides	3/3	Aucune interférence
Ampicilline	3/3	Aucune interférence
Bilirubine	3/3	Aucune interférence

Répétabilité

La répétabilité intra-session et inter-sessions des résultats obtenus avec le Coagulation ELITe MGB Kit en association avec les instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius a été testée en analysant un panel d'échantillons de sang total prélevé sur EDTA, comprenant un échantillon de génotype hétérozygote pour chaque cible (FII SNP G20210A, FV SNP G1691A hétérozygote (Leiden), et MTHFR SNP C677T).

Un exemple de la répétabilité intra-session sur l'instrument ELITe InGenius est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 15 Répétabilité intra-session avec le ELITE InGenius

Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	IC	8	22,07	0,41
FV SNP G1691A hétérozygote		8	22,91	0,76
MTHFR SNP C677T hétérozygote		8	22,02	1,22

Tableau 16 Répétabilité intra-session avec le ELITE InGenius

Échantillon du panel	Allèle	N	Tm moyenne	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	Facteur II de type sauvage	8	58,19	0,207
	Facteur II muté	8	65,66	0,051
FV SNP G1691A hétérozygote	Facteur V de type sauvage	8	55,18	0,048
	Facteur V muté	8	62,31	0,120
MTHFR SNP C677T hétérozygote	MTHFR de type sauvage	8	56,73	0,183
	MTHFR muté	8	65,90	0,169

Un exemple de la répétabilité inter-sessions sur l'instrument ELITE InGenius est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 17 Répétabilité inter-sessions avec le ELITE InGenius

Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	IC	16	22,12	1,12
FV SNP G1691A hétérozygote		16	22,91	0,75
MTHFR SNP C677T hétérozygote		16	22,10	1,36

Tableau 18 Répétabilité inter-sessions avec le ELITE InGenius

Échantillon du panel	Allèle	N	Tm moyenne	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	Facteur II de type sauvage	16	58,18	0,182
	Facteur II muté	16	65,78	0,258
FV SNP G1691A hétérozygote	Facteur V de type sauvage	16	55,18	0,064
	Facteur V muté	16	62,31	0,116
MTHFR SNP C677T hétérozygote	MTHFR de type sauvage	16	56,73	0,211
	MTHFR muté	16	65,96	0,257

Un exemple de la répétabilité intra-session sur l'instrument ELITE BeGenius est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 19 Répétabilité intra-session avec le ELITE BeGenius

Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	IC	8	22,35	1,90
FV SNP G1691A hétérozygote		8	22,95	2,20
MTHFR SNP C677T hétérozygote		8	22,40	1,28

Tableau 20 Répétabilité intra-session avec le ELITE BeGenius

Échantillon du panel	Allèle	N	Tm moyenne	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	Facteur II de type sauvage	8	57,64	0,392
	Facteur II muté	8	65,21	0,150
FV SNP G1691A hétérozygote	Facteur V de type sauvage	8	54,84	0,120
	Facteur V muté	8	61,56	0,242
MTHFR SNP C677T hétérozygote	MTHFR de type sauvage	8	56,29	0,174
	MTHFR muté	8	65,30	0,116

Un exemple de la répétabilité inter-sessions sur l'instrument ELITE BeGenius est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 21 Répétabilité inter-sessions avec le ELITE BeGenius

Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	IC	16	22,26	1,58
FV SNP G1691A hétérozygote		16	23,10	2,02
MTHFR SNP C677T hétérozygote		16	22,45	1,75

Tableau 22 Répétabilité inter-sessions avec le ELITE BeGenius

Échantillon du panel	Allèle	N	Tm moyenne	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	Facteur II de type sauvage	16	57,71	0,494
	Facteur II muté	16	65,24	0,119
FV SNP G1691A hétérozygote	Facteur V de type sauvage	16	54,82	0,131
	Facteur V muté	16	61,60	0,218
MTHFR SNP C677T hétérozygote	MTHFR de type sauvage	16	56,29	0,273
	MTHFR muté	16	65,28	0,099

La répétabilité, en association avec les instruments ELITE InGenius et ELITE BeGenius, du kit Coagulation ELITE MGB Kit a montré une variabilité maximale des valeurs de Ct de l'IC et de Tm des cibles, en CV en %, inférieures à 5 %.

Reproductibilité

La répétabilité intra-session et inter-sessions des résultats obtenus avec le Coagulation ELITE MGB Kit en association avec les instruments ELITE InGenius et ELITE BeGenius a été testée en analysant un panel d'échantillons de sang total prélevé sur EDTA, comprenant un échantillon de génotype hétérozygote pour chaque cible (FII SNP G20210A, FV SNP G1691A hétérozygote (Leiden), et MTHFR SNP C677T).

La reproductibilité inter-lots et inter-instruments des résultats obtenus avec le Coagulation ELITE MGB Kit en association avec les instruments ELITE InGenius et ELITE BeGenius a été testée en analysant un panel d'échantillons de sang total prélevé sur EDTA, comprenant un échantillon de génotype hétérozygote pour chaque cible (FII SNP G20210A, FV SNP G1691A hétérozygote (Leiden), et MTHFR SNP C677T).

Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants.

Tableau 23 Reproductibilité inter-lots sur l'instrument ELITE InGenius

Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	IC	16	22,28	1,28
FV SNP G1691A hétérozygote		16	22,46	2,58
MTHFR SNP C677T hétérozygote		16	23,14	1,47

Tableau 24 Reproductibilité inter-lots sur l'instrument ELITE InGenius

Échantillon du panel	Allèle	N	Tm moyenne	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	Facteur II de type sauvage	16	58,1	0,23
	Facteur II muté	16	65,7	0,12
FV SNP G1691A hétérozygote	Facteur V de type sauvage	16	55,1	0,10
	Facteur V muté	16	62,3	0,13
MTHFR SNP C677T hétérozygote	MTHFR de type sauvage	16	56,6	0,32
	MTHFR muté	16	65,8	0,22

Tableau 25 Reproductibilité inter-instruments avec ELITE InGenius

Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	IC	16	22,38	1,53
FV SNP G1691A hétérozygote		16	22,45	2,34
MTHFR SNP C677T hétérozygote		16	23,13	1,27

Tableau 26 Reproductibilité inter-instruments avec ELITE InGenius

Échantillon du panel	Allèle	N	Tm moyenne	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	Facteur II de type sauvage	16	58,1	0,27
	Facteur II muté	16	65,6	0,12
FV SNP G1691A hétérozygote	Facteur V de type sauvage	16	55,1	0,21
	Facteur V muté	16	62,2	0,16
MTHFR SNP C677T hétérozygote	MTHFR de type sauvage	16	56,6	0,35
	MTHFR muté	16	65,7	0,28

Tableau 27 Reproductibilité inter-lots sur l'instrument ELITE BeGenius

Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	IC	16	22,42	1,72
FV SNP G1691A hétérozygote		16	22,60	1,99
MTHFR SNP C677T hétérozygote		16	22,80	2,20

Tableau 28 Reproductibilité inter-lots sur l'instrument ELITE BeGenius

Échantillon du panel	Allèle	N	Tm moyenne	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	Facteur II de type sauvage	16	57,6	0,29
	Facteur II muté	16	65,2	0,11
FV SNP G1691A hétérozygote	Facteur V de type sauvage	16	54,8	0,11
	Facteur V muté	16	61,5	0,24
MTHFR SNP C677T hétérozygote	MTHFR de type sauvage	16	56,2	0,27
	MTHFR muté	16	65,2	0,28

Tableau 29 Reproductibilité inter-instruments avec ELITE BeGenius

Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	IC	16	22,51	1,60
FV SNP G1691A hétérozygote		16	22,63	1,68
MTHFR SNP C677T hétérozygote		16	23,15	1,83

Tableau 30 Reproductibilité inter-instruments avec ELITe BeGenius

Échantillon du panel	Allèle	N	Tm moyenne	% CV Ct
FII SNP G20210A hétérozygote	Facteur II de type sauvage	16	57,7	0,45
	Facteur II muté	16	65,2	0,13
FV SNP G1691A hétérozygote	Facteur V de type sauvage	16	54,8	0,16
	Facteur V muté	16	61,6	0,23
MTHFR SNP C677T hétérozygote	MTHFR de type sauvage	16	56,2	0,30
	MTHFR muté	16	65,3	0,17

La reproductibilité, en association avec les instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius, du kit Coagulation ELITe MGB Kit a montré une variabilité maximale des valeurs de Ct de l'IC et de Tm des cibles, en CV en %, inférieures à 5 %.

Robustesse : test de contamination croisée

L'absence de contamination croisée a été vérifiée en analysant 6 réplicats d'échantillons de sang total en alternance avec 6 réplicats d'eau de qualité biologie moléculaire avec le produit Coagulation ELITe MGB Kit, sur l'instrument ELITe InGenius.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 31

Échantillons	N	Génotype			IC
		FII hétérozygote	MTHFR de type sauvage	FV de type sauvage	Ct < 26,5
Sang total prélevé sur EDTA	30	30/30	30/30	30/30	30/30
Eau de qualité biologie moléculaire	30	N.A.	N.A.	N.A.	0/30

Le test générait un résultat « Invalid » (Non valide) pour un quelconque échantillon d'eau testé qui montrait une absence de contamination croisée.

Concordance diagnostique : confirmation du génotype d'un échantillon certifié

La concordance diagnostique de ce test, en tant que capacité à correctement identifier le génotype d'un échantillon certifié, a été évaluée en effectuant les analyses avec l'instrument ELITe InGenius.

Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants.

Tableau 32

Génotype de l'échantillon : Facteur V G1691A	N	Type sauvage	Hétérozygote	Homozygote	Concordance Concordance	Concordance diagnostique Concordance
Type sauvage	108	108	0	0	100 %	100 %
Hétérozygote	57	0	57	0	100 %	
Homozygote muté	53	0	0	53	100 %	

Dans la discrimination allélique du locus du SNP G1691A du Facteur V, le test a généré des résultats concordants pour tous les échantillons testés. Dans ce test, la concordance diagnostique totale pour le locus du SNP G1691A du Facteur V était de 100 %.

Tableau 33

Génotype de l'échantillon : Facteur II G20210A	N	Type sauvage	Hétérozygote	Homozygote	Concordance Concordance	Concordance diagnostique Concordance
Type sauvage	160	160	0	0	100 %	100 %
Hétérozygote	59	0	59	0	100 %	
Homozygote muté (simulé)	56	0	0	56	100 %	

Dans la discrimination allélique du locus du SNP G20210A du Facteur II, le test a généré des résultats concordants pour tous les échantillons testés. Dans ce test, la concordance diagnostique totale pour le locus du SNP G20210A du Facteur II était de 100 %.

Tableau 34

Génotype de l'échantillon : MTHFR C677T	N	Type sauvage	Hétérozygote	Homozygote	Concordance Concordance	Concordance diagnostique Concordance
Type sauvage	63	63	0	0	100 %	100 %
Hétérozygote	136	0	136	0	100 %	
Homozygote muté	19	0	0	19	100 %	
Homozygote muté (simulé)	36	0	0	36		

Dans la discrimination allélique du locus du SNP C677T de la MTHFR, le test a généré des résultats concordants pour tous les échantillons testés. Dans ce test, la concordance diagnostique totale pour le locus du SNP C677T de la MTHFR était de 100 %.

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, les performances diagnostiques du test constatées avec l'instrument ELITe InGenius s'appliquent également à l'instrument ELITe BeGenius.

La valeur seuil Ct du Contrôle interne (Ct de l'IC) est définie à 26,5 pour les instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius.

NOTE!

Les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et l'instrument sont présentés dans la Fiche technique du produit « **Coagulation ELiTe MGB Kit** », FTP RTSD00ING.

12 BIBLIOGRAPHIE

- Voorberg, J. et al. (1994) *The Lancet* 343: 1535 - 1536.
- Baker, R. et al. (1994) *The Lancet* 344: 1162.
- Poort, S. R. et al. (1996) *Blood* 88: 3698 - 3703.
- Kluijtmans L. A. et al. (1996) *Am J Hum Genet* 58: 35 - 41.
- Cattaneo M. et al. (1997) *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 17: 1662-1666

13 LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser ce produit uniquement avec des échantillons cliniques de sang total prélevé sur EDTA.

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

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

La méthode de PCR en temps réel utilisée dans ce produit présente une sensibilité analytique élevée qui la rend sensible aux contaminations par les échantillons cliniques, les contrôles positifs et les produits de la PCR. Une contamination croisée peut produire une détection erronée concernant l'allèle cible. 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 consistant en une détection erronée de l'allèle cible.

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 d'absence de détection de l'allèle cible obtenu avec ce produit indique que l'ADN cible n'est pas détecté dans l'ADN extrait de l'échantillon ; toutefois, il n'est pas possible d'exclure la possibilité que de l'ADN cible soit présent à un titre inférieur à la limite de détection du produit (se reporter à la section [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 20](#)). Dans ce cas, le résultat pourrait être non concluant.

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

Un résultat non valide ou non concluant obtenu avec ce produit signifie qu'il n'a pas été possible de détecter efficacement l'ADN génomique de l'échantillon ou les températures de dissociation des allèles. Dans ce cas, l'analyse de l'échantillon doit être répétée, ayant pour conséquence un éventuel retard d'obtention des résultats.

D'éventuels polymorphismes au sein de la région de l'ADN cible couverte par les amorces et les sondes du produit peuvent affecter la détection de l'ADN cible et générer des résultats incorrects.

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

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, il existe un risque résiduel d'obtention de résultats non valides, 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 35

Réaction Positive Control non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et du Contrôle positif. Vérifier les volumes du PCR Mix et du Positive Control.
Dégradation du PCR Mix.	Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 7 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de stockage] ou dans la Cooler Unit [unité de refroidissement]). 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 [unité de refroidissement]). Ne pas laisser le PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.
Dégradation du Positive Control.	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 [unité de refroidissement]). Utiliser une nouvelle aliquote du Positive Control.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 36

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.

Tableau 36 (continued)

Réaction du Contrôle négatif non valide	
Causes possibles	Solutions
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 37

Réaction de l'échantillon non valide ou non concluante	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et de l'échantillon. Vérifier les volumes du PCR Mix et de l'échantillon.
Dégradation du PCR Mix.	Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 7 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans 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.
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 38

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

Tableau 39

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 biologique 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 40

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

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.

Appendix A Coagulation ELiTe MGB Kit utilisé en association avec les plateformes de la série Genius



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 **Coagulation ELiTe MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic in vitro destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test qualitatif de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la discrimination allélique des trois loci suivants :

- gène du Facteur V de la coagulation, polymorphisme d'un seul nucléotide (SNP) G1691A (Leiden),
- gène du Facteur II de la coagulation, SNP G20210A,
- gène 5,10-méthylènetétrahydrofolate réductase (MTHFR), SNP C677T.

en monoplex, duplex (FII et FV) ou triplex (FII, FV et MTHFR) dans des échantillons d'ADN génomique humain extraits d'échantillons cliniques.

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

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide à l'évaluation du risque de thrombose veineuse profonde chez les patients présentant une suspicion de trouble de la coagulation et à risque de thrombose veineuse profonde.

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

Séquence amplifiée

Séquence	Gène	Fluorophore	Canal
Cible 1	Facteur V, SNP G1691A (Leiden)	AP639	FV
Cible 2	Facteur II, SNP G20210A	FAM	FII
Cible 3	MTHFR, SNP C677T	AP593	MTHFR
Contrôle interne	Gène de la bêta-globine humaine	AP525	IC

Matrice validée

- Sang total prélevé sur EDTA

Contenu du kit et produits associés

Coagulation ELITe MGB Kit (RTSD00ING)		Coagulation - ELITe Positive Control (CTRD00ING)	
 X 8		 X 3	
52M PCRMix 8 tubes de 280 µL 12 réactions par tube 96 réactions par kit 7 cycles de congélation/décongélation par tube		52M Positive Control 3 tubes de 160 µL 4 réactions par tube 12 réactions par kit 4 cycles de congélation/décongélation par tube	
Durée de conservation maximale :	24 mois	Durée de conservation maximale :	24 mois
Température de stockage	≤ -20 °C	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.	Consommables pour ELITe InGenius et ELITe BeGenius (voir le mode d'emploi des instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius)
--	---

Protocole ELITe InGenius et ELITe BeGenius

- Volume d'échantillon - Volume d'élution total	200 µL 200 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

Génotype de l'échantillon : Facteur V G1691A	Sensibilité analytique	Concordance diagnostique
Type sauvage	70 ng d'ADN/réaction	100 %
Hétérozygote	70 ng d'ADN/réaction	100 %
Homozygote muté	70 ng d'ADN/réaction	100 %

Génotype de l'échantillon : Facteur II G20210A	Sensibilité analytique	Concordance diagnostique
Type sauvage	70 ng d'ADN/réaction	100 %
Hétérozygote	70 ng d'ADN/réaction	100 %
Homozygote muté	70 ng d'ADN/réaction	100 %

Génotype de l'échantillon : MTHFR C677T	Sensibilité analytique	Concordance diagnostique
Type sauvage	70 ng d'ADN/réaction	100 %
Hétérozygote	70 ng d'ADN/réaction	100 %
Homozygote muté	70 ng d'ADN/réaction	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 selon les directives de laboratoire, et prélevés, transportés et conservés dans les conditions suivantes :

Tableau 41

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	≤ 3 j	≤ 7 j	≤ 30 j	≤ 1 an

EDTA, acide éthylènediaminetétraacétique ; j, 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 contrôles : Positive Control et le Negative Control dans le menu « Controls » (Contrôles). Remarque : les deux contrôles doivent avoir été analysés, approuvés et ne pas être expirés.	3. Décongeler les tubes de PCR Mix . 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 : « 200 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 : 52M ELITe_WB_200_200 52M ELITe_FII_WB_200_200 52M ELITe_FV_WB_200_200 52M ELITe_MTHFR_WB_200_200 52M ELITe_FVFII_WB_200_200	5. Sélectionner la méthode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) et la position de l'échantillon : Extraction Tube (Tube d'extraction)	6. Charger le PCR Mix et le Contrôle interne dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7. Charger : la PCR Cassette, la cartouche d'extraction, le tube d'élution, la cassette à embouts, les racks de tubes d'extraction	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

NOTE!

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile	2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », Éluat : « 200 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 : 52M ELITe_PC ou 52M ELITe_NC ou 52M ELITe_WB_200_200 52M ELITe_FII_WB_200_200 52M ELITe_FV_WB_200_200 52M ELITe_MTHFR_WB_200_200 52M ELITe_FVFII_WB_200_200	5. Sélectionner la méthode « PCR Only » (PCR seulement) et la position d'échantillon : « Elution Tube » (Tube d'élution)	6. Charger le PCR Mix dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7. Charger : le rack de cassette de PCR et les racks de tubes d'élution avec l'acide nucléique extrait	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	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 contrôles : Positive Control et le Negative Control dans le menu « Controls » (Contrôles). <u>Remarque</u> : les deux contrôles doivent avoir été analysés, approuvés et ne pas être expirés.	3. Décongeler les tubes de PCR Mix . 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 : « 200 µL »
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : 52M ELITe_Be_WB_200_200 52M ELITe_FII_Be_WB_200_200 52M ELITe_FV_Be_WB_200_200 52M ELITe_MTHFR_Be_WB_200_200 52M ELITe_FVFI_Be_WB_200_200 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 Basket » (Panier 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, contrôles)

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile, puis cliquer sur le mode d'analyse « PCR Only » (PCR seulement)	2. Charger les tubes à code-barres contenant les acides nucléiques extraits ou les contrôles dans le « Elution Rack » (Rack d'élution), puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	3. Pour 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 : 52M ELITe_Be_PC ou 52M ELITe_Be_NC ou 52M ELITe_Be_WB_200_200 52M ELITe_FII_Be_WB_200_200 52M ELITe_FV_Be_WB_200_200 52M ELITe_MTHFR_Be_WB_200_200 52M ELITe_FVFI_Be_WB_200_200	5. Charger le PCR Mix dans le Reagent/Elution Rack (Rack de réactifs/d'élution) et 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