

Instructions for use

GI Viral PLUS ELITe MGB® Kit

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



REF RTS501ING

UDI 08033891487515

CE **IVD**
0123

HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Rév.	Avis de modification	Date (jj/mm/aa)
01	Nouvelle couleur du bouchon des tubes des composants du PCR Mix. Mise à jour des paragraphes : « Autres produits requis », « Matériel requis, mais non fourni », « Symboles », « Avis aux utilisateurs » et « Note pour l'acquéreur » Nouveaux graphiques et contenu du mode d'emploi.	28/10/25
00	Développement de nouveaux produits	15/03/24

NOTE!

La révision du présent mode d'emploi est également compatible avec les versions précédentes du kit

SOMMAIRE

1 APPLICATION	4
2 PRINCIPE DU TEST	4
3 DESCRIPTION DU PRODUIT	4
4 MATÉRIEL FOURNI	5
5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	5
6 AUTRES PRODUITS REQUIS	5
7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	6
8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	7
9 PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius	9
10 PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius	16
11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	22
12 BIBLIOGRAPHIE	38
13 LIMITES DE LA PROCÉDURE	38
14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS	40
15 LÉGENDE DES SYMBOLES	42
16 AVIS AUX UTILISATEURS	43
17 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	43
Appendix A QUICK START GUIDE	44

1 APPLICATION

Le produit **GI Viral PLUS 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 multiplexe de transcription inverse et de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la **détection et l'identification** de l'ADN génomique d'adénovirus (ADV), et de l'ARN génomique de norovirus (NV), rotavirus (RV), astrovirus (ASV) et sapovirus (SV), extrait d'échantillons cliniques.

Le test est capable de détecter l'ADN des adénovirus appartenant aux sérotypes F40 et F41 (typés par une analyse de fusion), l'ARN des norovirus appartenant aux génogroupes GI et GII (typés par une analyse de fusion), des rotavirus appartenant au groupe A, des astrovirus humains et des sapovirus humains.

Le test est validé en association avec les instruments **ELITE InGenius®** et **ELITE BeGenius®**, des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, de transcription inverse, de PCR en temps réel et d'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons de selles humaines.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic des infections virales gastrointestinales chez les patients suspectés de présenter une infection par un adénovirus, norovirus, rotavirus, astrovirus ou sapovirus.

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 en temps réel qualitative multiplexe par transcription inverse et en une seule étape détectant l'ADN d'adénovirus et l'ARN de norovirus, rotavirus, astrovirus et sapovirus des échantillons, suite à une transcription inverse puis une amplification en utilisant un mélange réactionnel complet qui contient des amorces et des sondes dotées de la technologie ELITE MGB.

Les sondes ELITE MGB sont activées lorsqu'elles s'hybrident aux produits de PCR associés. Les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** surveillent l'augmentation de la fluorescence et calculent les cycles seuils (Ct) ainsi que les températures de fusion (Tm).

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 produit **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** fournit les composants suivants :

- le **GI-V PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amorces et les sondes spécifiques pour :
- le gène de la protéine hexon d'adénovirus F40 et F41, détecté dans le Canal **ADV** ; 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 RdRp de la polyprotéine GI et GII de norovirus, détecté dans le canal **NV** ; les sondes sont stabilisées par le groupe MGB, désactivées par le désactivateur Eclipse Dark Quencher, et marquées par le colorant FAM,
- le gène NSP3 des rotavirus du groupe A, détecté dans le Canal **RV** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor 593 (AP593),
- le gène de la protéine de capsid d'astrovirus, détecté dans le Canal **ASV** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher, et marquée par le colorant AquaPhluor 690 (AP690),
- le gène de la polyprotéine GI/GII/GIV de sapovirus et GV de sapovirus, détecté dans le canal **SV** ; les sondes sont stabilisées par le groupe MGB, désactivées par le désactivateur Eclipse Dark Quencher, et marquées par le colorant AquaPhluor 559 (AP559),
- Le Contrôle interne (Internal Control) (**IC**), spécifique pour une région de l'ARN génomique du phage MS2, détecté dans le canal **IC** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor 525 (AP525).

Le **GI-V PCR Mix** contient également un tampon, du chlorure de magnésium, des nucléotides triphosphates et l'enzyme ADN polymérase avec activation thermique (Hot start).

- Le **RT EnzymeMix**, un mélange d'enzymes optimisé et stabilisé pour la transcription inverse.

Le **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **96 tests** sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, en utilisant 20 µL de **GI-V PCR Mix** et 0,3 µL de **RT EnzymeMix** par réaction.

Le **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** peut également être utilisé en association avec des instruments équivalents.

4 MATÉRIEL FOURNI

Tableau 1

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
GI-V PCR Mix réf. RTS501ING	Mélange de réactifs pour la transcription inverse et la PCR en temps réel dans un tube doté d'un capuchon NATUREL	4 x 600 µL	-
RT EnzymeMix réf. RTS003-RT	Enzymes pour la transcription inverse dans un tube doté d'un capuchon avec un insert NOIR	2 x 20 µL	-

5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

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

6 AUTRES PRODUITS REQUIS

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

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

Tableau 2

Instruments et logiciels	Produits et réactifs
<p>ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA réf. INT030)</p> <p>ELITE InGenius Software version 1.3.0.19 (ou versions ultérieures)</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_PC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_NC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de selles.</p>	<p>GI Viral PLUS - ELITE Positive Control (EG SpA, réf. CTR501ING)</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, réf. CTRCPE),</p> <p>ELITE InGenius SP200 (EG SpA, réf. INT032SP200)</p> <p>Consommables pour ELITE InGenius et ELITE BeGenius (voir le mode d'emploi des instruments ELITE InGenius et ELITE BeGenius)</p>
<p>ELITE BeGenius (EG SpA réf. INT040)</p> <p>ELITE BeGenius Software version 2.3.0 (ou versions ultérieures)</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_Be_PC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif.</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_Be_NC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif.</p> <p>GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de selles.</p>	<p>InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Allemagne, réf. 19593) ou dispositif équivalent.</p> <p>Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italie, réf. 501CS01) ou dispositif équivalent.</p> <p>FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italie, réf. 470CE) ou dispositif équivalent avec milieu Cary-Blair.</p>

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
GI-V PCR Mix	-20°C ou température plus basse (à l'abri de la lumière)	un mois	jusqu'à cinq
RT EnzymeMix	-20 °C ou température plus basse	un mois	jusqu'à dix fois et jusqu'à dix minutes à +2/+8 °C

8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

8.1 Échantillons

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

Tableau 4

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	70 ± 15 °C
Selles	collectées sans conservateurs	≤ 24 heures	≤ 48 heures	≤ 1 mois	≤ 2 mois
	collectées dans un milieu FecalSwab	≤ 48 heures	≤ 5 jours	≤ 1 mois	≤ 2 mois

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.

Suivre les instructions ci-dessous pour le pré-traitement des échantillons.

Procédure de pré-traitement avec des selles natives collectées sans conservateurs :

1. transférer 1 mL de tampon InhibitEX Buffer dans un tube Sarstedt de 2 mL,
2. prélever l'échantillon de selles à l'aide d'un écouvillon Minitip Flocked Swab with 80mm Break (Copan) ; effectuer le prélèvement à différents endroits dans les selles et éliminer l'échantillon en excès en appuyant l'écouvillon contre la paroi du tube,
3. insérer l'écouvillon dans le tube Sarstedt de 2 mL contenant le tampon InhibitEX Buffer et le faire tourner au moins 10 fois, en l'appuyant contre la paroi du tube,
4. jeter l'écouvillon et fermer le capuchon du tube,
5. agiter au vortex pendant environ 60 s,
6. incubé dans un thermomixer à environ +80 °C et environ 800 tr/min pendant 10 minutes,
7. centrifuger à 10 000 tr/min pendant 15 s,
8. avec précaution, transférer 200 µL du surnageant de selles clarifié dans un tube d'extraction (pour l'instrument ELITE InGenius) ou dans un tube Sarstedt de 2 mL (pour l'instrument ELITE BeGenius) en veillant à ne pas perturber le culot de matière fécale.

Procédure de pré-traitement avec des selles collectées dans un milieu FecalSwab :

1. transférer 500 µL de tampon InhibitEX Buffer dans un tube Sarstedt de 2 mL,
2. transférer 500 µL d'échantillon en suspension depuis le milieu FecalSwab dans le tube Sarstedt de 2 mL contenant le tampon InhibitEX Buffer,
3. boucher fermement le tube et agiter au vortex pendant environ 60 s,
4. incubé dans un thermomixer à environ +80 °C et environ 800 tr/min pendant 10 minutes,
5. centrifuger à 10 000 tr/min pendant 15 s,
6. avec précaution, transférer 200 µL du surnageant de selles clarifié dans un tube d'extraction (pour l'instrument ELITE InGenius) ou dans un tube Sarstedt de 2 mL (pour l'instrument ELITE BeGenius) en veillant à ne pas perturber le culot de matière fécale.

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

Tableau 5

Protocoles de test pour le GI Viral PLUS ELITE MGB Kit				
Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques

Tableau 5 (continued)

Selles natives ou selles collectées dans un milieu FecalSwab	ELITE InGenius	GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100	Positif/ Négatif	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 10 µL
	ELITE BeGenius	GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100		

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

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 « Avertissements et précautions ».

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

Se reporter au paragraphe « Substances potentiellement interférentes » de la section « Caractéristiques de performance » pour obtenir de plus amples 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 Contrôle positif, utiliser le produit **GI Viral PLUS - ELITE Positive Control** (non inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **GI Viral PLUS ELITE_PC** ou **GI Viral PLUS ELITE_Be_PC**.
- Pour le Contrôle négatif, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **GI Viral PLUS ELITE_NC** ou **GI Viral PLUS 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 contrôles positif et négatif. Les contrôles de la PCR doivent être à nouveau analysés en cas de survenue de l'une des situations suivantes :

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

8.3 Contrôles de qualité

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

9 PROCÉDURE AVEC LE ELITE InGenius

La procédure d'utilisation du **GI Viral PLUS 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 **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITE InGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

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

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

NOTE!

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

Avant de paramétrer une analyse :

- Décongeler les tubes de **PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer **24 tests** dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Agiter au vortex à basse vitesse pendant 10 secondes à trois reprises, puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes et conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

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

- Se munir des tubes de **RT EnzymeMix** nécessaires. Chaque tube permet d'effectuer **48 tests**. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

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

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

Tableau 7

Nombre d'échantillons (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 12$	290 μL	4,4 μL

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

NOTE!

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

NOTE!

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

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

Tableau 8

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
1	<p>Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante.</p> <p>Pré-traiter les échantillons conformément à la procédure décrite à la section « Échantillons et contrôles ».</p> <p>Pour ce test, 200 μL d'échantillon prétraité doivent être transférés dans un tube d'extraction préalablement étiqueté.</p>	<p>Décongeler les tubes d'éluition 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.</p>	<p>Décongeler les tubes de Contrôle positif à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Chaque tube permet d'effectuer 4 réactions.</p>
2	<p>Décongeler les tubes de CPE nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions.</p>	Non applicable	<p>Préparer le Contrôle négatif en transférant au minimum 50 μL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'éluition) fourni avec le ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.</p>

Tableau 8 (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 Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
3	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).
4	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 100 µL.
5	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
6	Sélectionner l'Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner l'Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner l'Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »). Saisir le numéro de lot et la date de péremption du Contrôle positif et de l'eau de qualité biologique moléculaire.
7	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).
8	Sélectionner la position de chargement de l'échantillon en tant que « Extraction Tube » (Tube d'extraction) dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons).	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'élution [ligne du bas]).	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'élution [ligne du bas]).
9	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
10	Charger le CPE et le mélange réactionnel complet sur l'« Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » et saisir le numéro de lot et la date de péremption du CPE et du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	Charger le mélange réactionnel complet sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	Charger le mélange réactionnel complet sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.
11	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
12	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.
13	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

Tableau 8 (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 Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
14	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 le tube d'éluion avec les échantillons extraits.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif.
15	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
16	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
17	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'éluion** doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 ± 10 °C pendant un mois maximum. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

NOTE!

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

NOTE!

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

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

À la fin de l'analyse, l'écran « Results Display » (Affichage des résultats) s'affiche automatiquement. Cet écran présente les résultats et les informations de l'analyse. À partir de cet écran, les résultats peuvent être approuvés et les rapports imprimés ou enregistrés (« Sample Report » [Rapport échantillons] ou « Track Report » [Rapport des positions]). Voir le 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 **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

- A. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif,
- B. Validation des résultats de l'échantillon,
- C. 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 **ELITE InGenius software** interprète les résultats de la PCR pour les cibles (Canaux **NV, SV, ADV, RV** et **ASV**) et le Contrôle interne (Canal **IC**) avec les paramètres de protocole de test (Assay Protocol) **GI Viral PLUS ELITE _ST_200_100**.

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 9

1) Contrôle positif	État
GI-V Positive Control	APPROUVÉ
2) Contrôle négatif	État
GI-V Negative Control	APPROUVÉ

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

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

Tableau 10

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Détecté Genogroup I)	L'ARN de norovirus a été détecté dans l'échantillon et typé comme génogroupe I.
NV:RNA Detected Genogroup II (NV:ARN Détecté Genogroup II)	L'ARN de norovirus a été détecté dans l'échantillon et typé comme génogroupe II.
NV:RNA Detected Typing not determined (NV:ARN Détecté Typing not determined)	L'ARN de norovirus a été détecté dans l'échantillon, mais l'analyse pour le typage du génogroupe n'a pas été possible. Le test doit être répété.
NV:RNA Not detected or below the LoD (NV:ARN Non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARN de norovirus n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARN cible ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
SV:RNA Detected (SV:ARN Détecté)	L'ARN de sapovirus a été détecté dans l'échantillon.
SV:RNA Not detected or below the LoD (SV:ARN Non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARN de sapovirus n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARN cible ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
RV:RNA Detected (RV:ARN Détecté)	L'ARN de rotavirus a été détecté dans l'échantillon.
RV:RNA Not detected or below the LoD (RV:ARN Non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARN de rotavirus n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARN cible ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
ADV:DNA Detected Serotype F40 (ADV: ADN Détecté Serotype F40)	L'ADN d'adénovirus a été détecté dans l'échantillon et typé comme sérotype F40.
ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV: ADN Détecté Serotype F41)	L'ADN d'adénovirus a été détecté dans l'échantillon et typé comme sérotype F41.
ADV:DNA Detected Typing not determined (ADV:ADN Détecté Typing not determined)	L'ADN d'adénovirus a été détecté dans l'échantillon, mais l'analyse pour le typage du génogroupe n'a pas été possible. Le test doit être répété.
ADV:DNA Not detected or below the LoD (ADV:ADN Non détecté ou inférieur à LoD)	L'ADN d'adénovirus n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN cible ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
ASV:RNA Detected (ASV:ARN Détecté).	L'ARN d'astrovirus a été détecté dans l'échantillon.
ASV:RNA Not detected or below the LoD (ASV:ARN Non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARN d'astrovirus n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARN cible ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Invalid-Retest Sample (Non valide-Tester à nouveau l'échantillon)	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Contrôle interne (en raison, par exemple, d'une extraction incorrecte, d'un transfert d'inhibiteurs). Le test doit être répété.

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

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

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

Les échantillons rapportés comme « XXX:RNA/DNA Detected Typing not determined » (XXX:ARN/ADN Détecté Typing not determined) ne sont pas appropriés pour le typage du génogroupe I ou II de norovirus et du sérotype F40 ou F41 d'adénovirus. Cependant, les échantillons sont positifs pour l'ARN de norovirus et/ou l'ADN d'adénovirus.

NOTE!

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

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

9.3.3 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 **GI Viral PLUS ELITE MGB Kit** avec le **ELITE BeGenius** comporte trois étapes :

Tableau 11

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 **GI Viral PLUS ELITe MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITe BeGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

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

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

NOTE!

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

Avant de paramétrer une analyse :

1. Décongeler les tubes de **PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer **24 tests** dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Agiter au vortex à basse vitesse pendant 10 secondes à trois reprises, puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes et conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

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

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

NOTE!

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

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

Tableau 12

Nombre d'échantillons (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$

Tableau 12 (continued)

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

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

NOTE!

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

NOTE!

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

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

Tableau 13

	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])
1	<p>Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante.</p> <p>Pré-traiter les échantillons conformément à la procédure décrite à la section « Échantillons et contrôles ».</p> <p>Pour ce test, 200 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube Sarstedt de 2 mL préalablement étiqueté.</p>	<p>Si nécessaire, décongeler les tubes d'éluion contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.</p>	<p>Décongeler les tubes de Contrôle positif 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.</p>
2	<p>Décongeler les tubes de CPE nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions.</p>	Non applicable	<p>Préparer le Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'éluion) fourni avec le ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.</p>
3	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).
4	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.

Tableau 13 (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 Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
5	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).
6	Charger les échantillons dans le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons). Lorsque des tubes secondaires « 2 mL Tubes » (Tubes de 2 mL) sont chargés, utiliser les adaptateurs bleus pour le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons).	Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Rack d'éluion).	Charger les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif dans le « Elution Rack » (Rack d'éluion).
7	Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 5 » (L5). Insérer le « Sample ID » (ID échantillon) (SID) pour chaque « Position » utilisée (si des tubes secondaires sont chargés, les marquer « 2 mL Tube » (Tube de 2 mL). Si les tubes secondaires ne comportent pas de codes-barres, saisir manuellement le « Sample ID » [ID échantillon]).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'éluion) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Pour chaque « Position », saisir le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (Volume d'éluat extrait).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'éluion) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). 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).
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 100 µL.
10	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 »).
11	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
	Remarque : En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6.		Non applicable
12	Charger les « Elution tubes » (Tubes d'éluion) dans le « Elution Rack » (Rack d'éluion) (les tubes d'éluion peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité).	Non applicable	Non applicable

Tableau 13 (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 Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
13	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'éluion) 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
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Non applicable	Non applicable
15	Charger le CPE et le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion).	Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion).	Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion).
16	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Pour chaque PCR Mix et/ou CPE, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluion) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». 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'éluion) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». 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).
17	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
18	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.
19	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
20	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
21	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
22	Charger le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITE InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis.	Non applicable	Non applicable
23	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
24	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'éluion** doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 ± 10 °C pendant un mois maximum. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

NOTE!

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

NOTE!

À la fin de l'analyse, le **Positive Control** restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20°C ou à une température plus basse. Éviter de renverser le **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 **GI Viral PLUS 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

11.1 Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du test a été déterminée pour les instruments ELITE BeGenius et ELITE InGenius en testant des échantillons de selles natives dopés avec un matériel de référence de norovirus GI, norovirus GII, astrovirus, adénovirus F40, adénovirus F41 et rotavirus (ZeptoMetrix et ATCC) et sapovirus GI/II/IV et sapovirus GV (plasmides d'EG SpA).

Une analyse de régression des probits a été réalisée sur les résultats, et la LoD a été estimée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 %.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 14

Agent pathogène	LoD	Limites de l'intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
Norovirus GI	219 TCID ₅₀ /mL	146 TCID ₅₀ /mL	507 TCID ₅₀ /mL
Norovirus GII	151 TCID ₅₀ /mL	114 TCID ₅₀ /mL	321 TCID ₅₀ /mL
Astrovirus	690 TCID ₅₀ /mL	409 TCID ₅₀ /mL	2782 TCID ₅₀ /mL
Adénovirus F40	0,082 TCID ₅₀ /mL	0,058 TCID ₅₀ /mL	0,149 TCID ₅₀ /mL
Adénovirus F41	0,006 TCID ₅₀ /mL	0,004 TCID ₅₀ /mL	0,09 TCID ₅₀ /mL
Rotavirus	2,4 TCID ₅₀ /mL	1,9 TCID ₅₀ /mL	3,5 TCID ₅₀ /mL
Sapovirus GV	792 copies/mL	583 copies/mL	1267 copies/mL
Sapovirus GI/II/IV	1119 copies/mL	859 copies/mL	1897 copies/mL

La valeur de LoD calculée a été vérifiée sur les ELITE BeGenius et ELITE InGenius en testant des échantillons de selles natives et des échantillons de selles collectés dans un milieu FecalSwab dopés avec des matériels de référence de norovirus GI, norovirus GII, astrovirus, adénovirus F40, adénovirus F41, rotavirus, sapovirus GI/II/IV et sapovirus GV à la concentration revendiquée.

Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour toutes les cibles du GI Viral PLUS MGB Kit avec les deux matrices sur les ELITE BeGenius et ELITE InGenius.

11.2 Inclusivité : efficacité de détection de différentes souches ou isolats

L'inclusivité du test, en tant qu'efficacité de détection de différents génotypes ou isolats de norovirus (GI/GII), astrovirus, adénovirus (F40/F41), rotavirus et sapovirus (GI/II/IV/GV) a été évaluée par une analyse *in silico*. L'analyse a montré une conservation et une absence de mutations significatives pour toutes les cibles d'intérêt, à l'exception du norovirus. On peut donc s'attendre à des efficacités de détection différentes pour certains génotypes ou isolats de norovirus.

L'inclusivité a également été vérifiée par l'analyse de 10 matériels de référence (Qnostics, Vircell, ZeptoMetrix et ATCC) et en testant 14 ADN plasmidiques représentatifs des principaux variants génomiques de norovirus GI et norovirus GII.

Les résultats avec les matériels de référence sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 15

Cible	Fournisseur	Positifs/ Réplicats	Résultat
Norovirus GI	ZeptoMetrix	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Détecté Genogroup I)
Norovirus GII	Vircell	6/6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV:ARN Détecté Genogroup II)
Adénovirus F40	ZeptoMetrix	6/6	ADV:DNA Detected Serotype F40 (ADV:ADN Détecté Serotype F40)
Adénovirus F41	Vircell	6/6	ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV:ADN Détecté Serotype F41)
Adénovirus F41	Qnostics	6/6	ADV:DNA Detected Serotype F41 (ADV:ADN Détecté Serotype F41)
Rotavirus	Vircell	6/6	RV:RNA Detected (RV:ARN Détecté)
Rotavirus	Qnostics	6/6	RV:RNA Detected (RV:ARN Détecté)
Sapovirus	ATCC	6/6	SV:RNA Detected (SV:ARN Détecté)
Astrovirus I	ATCC	6/6	ASV:RNA Detected (ASV:ARN Détecté)
Astrovirus V	ATCC	6/6	ASV:RNA Detected (ASV:ARN Détecté)

Tous les échantillons ont été correctement détectés par le GI Viral PLUS ELITe MGB Kit.

Les résultats avec les ADN plasmidiques sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 16

Échantillon	Copies/ réaction	Positifs/ Réplicats	Résultat
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MN938461)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Détecté Genogroup I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID KP027330)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Détecté Genogroup I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MZ470608)	4 x 10 ⁴	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Détecté Genogroup I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID OK562729)	3 x 10 ⁴	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Détecté Genogroup I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MN421562)	1 x 10 ⁵	6/6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV:ARN Détecté Genogroup II)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID LC378987)	1 x 10 ⁷	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Détecté Genogroup I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MW647681)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Détecté Genogroup I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID OK147886)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Détecté Genogroup I)
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID MW362461)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV:ARN Détecté Genogroup I)

Tableau 16 (continued)

Échantillon	Copies/ réaction	Positifs/ Réplicats	Résultat
Plasmide Norovirus GI (SEQ ID EU085525)	750	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV: ARN Détecté Genogroup I)
Plasmide Norovirus GII (SEQ ID MK328934)	1 x 10 ²	6/6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV: ARN Détecté Genogroup II)
Plasmide Norovirus GII (SEQ ID MG674721)	1 x 10 ²	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV: ARN Détecté Genogroup I)
Plasmide Norovirus GII (SEQ ID MG495078)	1 x 10 ²	6/6	NV:RNA Detected Genogroup I (NV: ARN Détecté Genogroup I)
Plasmide Norovirus GII (SEQ ID KC464491)	1 x 10 ²	6/6	NV:RNA Detected Genogroup II (NV: ARN Détecté Genogroup II)

La sensibilité du produit peut changer jusqu'à 10 000 fois avec certains variants du Norovirus GI.

Avec le Norovirus GI génotype 9, le produit donnera un typage erroné comme « Norovirus GII ».

Avec le Norovirus GII génotypes 6 et 7, le produit donnera un typage erroné comme « Norovirus GI ».

11.3 Interférence entre les cibles

L'interférence potentielle entre les cibles du test a été évaluée par un test de co-amplification du norovirus GI, norovirus GII, astrovirus, adénovirus F40, adénovirus F41, rotavirus, sapovirus GI/II/IV et Sapovirus GV (ADN plasmidiques d'EG SpA).

Pour chaque cible, la plus faible concentration détectable dans tous les réplicats est indiquée dans le tableau suivant.

Tableau 17

Cible testée (faible nombre de copies)	Cible interférente à une concentration élevée (50 000 copies/réaction)						
	NV1	NV2	SV124	SV5	RV	ADV-F40	ASV
NV1	-	-	50 copies/ réaction	50 copies/ réaction	50 copies/ réaction	50 copies/ réaction	50 copies/ réaction
NV2	-	-	100 copies/ réaction	100 copies/ réaction	100 copies/ réaction	100 copies/ réaction	100 copies/ réaction
SV124	100 copies/ réaction	100 copies/ réaction	-	-	100 copies/ réaction	100 copies/ réaction	100 copies/ réaction
SV5	50 copies/ réaction	50 copies/ réaction	-	-	50 copies/ réaction	50 copies/ réaction	50 copies/ réaction
RV	250 copies/ réaction	250 copies/ réaction	250 copies/ réaction	250 copies/ réaction	-	250 copies/ réaction	250 copies/ réaction
ADV-F40	50 copies/ réaction	50 copies/ réaction	50 copies/ réaction	50 copies/ réaction	50 copies/ réaction	-	50 copies/ réaction
ASV	250 copies/ réaction	250 copies/ réaction	250 copies/ réaction	250 copies/ réaction	250 copies/ réaction	250 copies/ réaction	-

Le GI Viral PLUS ELITe MGB Kit montre une interférence minimale entre les cibles. Toutes les cibles peuvent être détectées même si elles sont environ 200 fois moins nombreuses que les autres agents pathogènes d'intérêt.

11.4 Organismes potentiellement interférents : réactivité croisée

La réactivité croisée potentielle d'organismes non souhaitables qui peuvent être présents dans des échantillons de selles cliniques a été évaluée par une analyse *in silico*. L'analyse a montré une absence d'homologie significative avec d'autres organismes non souhaitables (virus, bactéries, protozoaires et champignons) et, par conséquent, aucune réactivité croisée n'est attendue excepté pour certains adénovirus différents de F40 et F41.

L'absence de réactivité croisée avec des organismes potentiellement interférents a également été vérifiée par l'analyse d'un panel d'organismes non souhaitables (ATCC, ZeptoMetrix, DSMZ et ADN plasmidiques).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 18

Échantillon	Positifs/Réplicats					Résultat
	NV	SV	RV	ADV	ASV	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Bacteroides fragilis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Helicobacter pylori</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Escherichia coli</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Serratia Marcescens</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Candida albicans</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Citrobacter freundii</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Clostridium difficile</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Proteus mirabilis</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Enterobacter cloacae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Giardia lamblia</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Entamoeba histolytica</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Salmonella enterica</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Shigella flexneri</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Vibrio cholerae</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Campylobacter jejuni</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Entérovirus B E4	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée

Tableau 18 (continued)

Échantillon	Positifs/Réplicats					Résultat
	NV	SV	RV	ADV	ASV	
Adénovirus espèce C (SEQ ID OR777170)	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Réactivité croisée pour l'ADV
Adénovirus espèce A (SEQ ID KX868289)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Adénovirus espèce B (SEQ ID AF542110)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Adénovirus espèce C (SEQ ID MN398196)	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Réactivité croisée pour l'ADV
Adénovirus espèce D (SEQ ID JN226752)	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Réactivité croisée pour l'ADV
Adénovirus espèce E (SEQ ID KY996446)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Adénovirus espèce G (SEQ ID DQ923122)	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	Réactivité croisée pour l'ADV

Tous les organismes potentiellement interférents testés n'ont montré aucune réactivité croisée pour l'amplification des cibles excepté pour l'adénovirus C, D et G, en utilisant le GI Viral PLUS ELITe MGB Kit.

11.5 Organismes potentiellement interférents : inhibition

L'inhibition potentielle du test par des organismes non souhaitables qui peuvent être présents dans des échantillons de selles cliniques a été évaluée par l'analyse d'un panel d'organismes non souhaitables (ATCC, ZeptoMetrix, DSMZ et ADN plasmidiques) dopés avec un norovirus (GI/GII), astrovirus, adénovirus (F40/F41), rotavirus, sapovirus (GI/II/IV/GV) (ADN plasmidiques d'EG SpA).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 19

Organisme	Positifs/Réplicats						Résultat
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Aeromonas hydrophila	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Bacteroides fragilis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Helicobacter pylori	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Saccharomyces cerevisiae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Plesiomonas shigelloides	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Klebsiella pneumoniae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Escherichia coli	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Serratia Marcescens	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Acinetobacter baumannii	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Bifidobacterium adolescentis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence

Tableau 19 (continued)

Organisme	Positifs/Réplicats						Résultat
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Candida albicans	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Citrobacter freundii	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Clostridium difficile	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Proteus mirabilis	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Pseudomonas aeruginosa	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Enterobacter cloacae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Giardia lamblia	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Cryptosporidium parvum	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Entamoeba histolytica	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Yersinia enterocolitica	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Salmonella enterica	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Shigella flexneri	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Vibrio cholerae	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Campylobacter jejuni	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Entérovirus B E4	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Adénovirus espèce C (SEQ ID OR777170)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Adénovirus espèce A (SEQ ID KX868289)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Adénovirus espèce B (SEQ ID AF542110)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Adénovirus espèce C (SEQ ID MN398196)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Adénovirus espèce D (SEQ ID JN226752)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Adénovirus espèce E (SEQ ID KY996446)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Adénovirus espèce G (SEQ ID DQ923122)	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence

Tous les organismes potentiellement interférents testés n'ont montré aucune inhibition de l'amplification des cibles en utilisant le GI Viral PLUS ELITe MGB Kit.

11.6 Substances potentiellement interférentes : réactivité croisée

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 20

Substance	Positifs/Réplicats						Résultat
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Huile de vaseline	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Nonoxynol-9	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Sous-salicylate de bismuth	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Chlorhydrate de lopéramide	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Bisacodyl	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Azithromycine	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Vancomycine	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Métronidazole	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Ampicilline	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Céfpodoxime	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Ciprofloxacine	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Hydrocortisone	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Carbonate de calcium	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Acide alginique	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Hydroxyde d'aluminium	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Trisilicate de magnésium	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Sang total	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Mucine	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Acide palmitique	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Acide stéarique	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée

Le test a montré que toutes les substances testées n'exercent aucune réaction croisée avec les cibles en utilisant le GI Viral PLUS ELITE MGB Kit.

11.7 Substances potentiellement interférentes : inhibition

L'inhibition potentielle du test par des substances interférentes (endogènes et exogènes) qui peuvent être présentes dans des échantillons de selles cliniques a été évaluée par l'analyse d'un panel de substances à une concentration pertinente dans des échantillons dopés avec des matériels de référence de norovirus GI, norovirus GII, astrovirus, adénovirus F40, adénovirus F41, rotavirus, sapovirus GV et sapovirus GI/GII/GIV (ZeptoMetrix, ATCC et plasmides d'EG SpA).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 21

Substance	Positifs/Réplicats						Résultat
	NV1	NV2	RV	ADV-F40	ADV-F41	ASV	
Huile de vaseline	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Nonoxynol-9	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Sous-salicylate de bismuth	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Chlorhydrate de lopéramide	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Bisacodyl	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Azithromycine	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Aucune interférence
Vancomycine	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Aucune interférence
Métronidazole	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Ampicilline	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Céfpodoxime	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	5 / 5	Aucune interférence
Ciprofloxacine	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Hydrocortisone	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Carbonate de calcium	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Acide alginique	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Hydroxyde d'aluminium	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Trisilicate de magnésium	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Sang total	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Mucine	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Acide palmitique	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Acide stéarique	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence

Le test a montré que les substances testées n'inhibent pas la détection des cibles en utilisant le GI Viral PLUS ELITe MGB Kit.

11.8 Contamination croisée

L'éventuelle contamination croisée pendant l'analyse a été évaluée pour le test en testant 60 réplicats d'un échantillon de selles négatif en alternance avec 60 réplicats du même échantillon dopé avec un matériel de référence d'adénovirus F40 (ADV-F40) (ZeptoMetrix) à environ 1×10^4 TCID₅₀/mL.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 22

Échantillons	N	Positifs	Négatifs	Concordance (%)
Positif	60	60	0	100 %
Négatif	60	0	60	100 %

Aucun des échantillons négatifs testés n'a généré de résultats faux positifs. Dans ce test avec le GI Viral PLUS ELITe MGB Kit, aucune contamination croisée n'a été détectée (intra-session et inter-sessions).

11.9 Défaillance de l'ensemble du système

Le taux de défaillance de l'ensemble du système pour le test a été évalué en analysant 52 échantillons de selles natives négatifs différents et 52 échantillons de selles collectés dans un milieu FecalSwab et dopés avec un matériel de référence de norovirus GII (Zeptomatrix) à une concentration de 3 x la LoD.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 23

Échantillons	N	Positifs	Négatifs	Taux de défaillance de l'ensemble du système
Selles natives dopées à 3 x la LoD	52	52	0	0 %
Selles dans un milieu FecalSwab dopées à 3 x la LoD	52	52	0	0 %

Dans ce test avec le GI Viral PLUS ELITe MGB Kit, 100 % des échantillons de selles natives et 100 % des échantillons de selles collectés dans un milieu FecalSwab ont été confirmés comme positifs. Dans ce test, le taux de défaillance de l'ensemble du système était de 0 % pour les échantillons de selles natives et de 0 % pour les échantillons de selles collectés dans un milieu FecalSwab.

11.10 Répétabilité

La répétabilité du test a été évaluée sur les ELITe BeGenius et ELITe InGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de selles natives qui étaient négatifs ou avaient été dopés avec des matériels de référence de norovirus GII, adénovirus F40, rotavirus, astrovirus et sapovirus GI/II/IV (ZeptoMatrix, ATCC et ADN plasmidique d'EG SpA).

Un exemple des résultats de la répétabilité intra-session (sur un seul jour) sur le ELITe BeGenius est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 24

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	NV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		6	31,25	0,42	1,34	100 %
	NV (Tm)	6	68,4	0,17	0,25	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		6	-	-	-	100 %
Nég	SV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		6	32,36	0,50	1,55	100 %
Nég	RV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		6	30,18	0,29	0,95	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		6	-	-	-	100 %

Tableau 24 (continued)

Nég	ADV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		6	34,17	0,81	2,37	100 %
	ADV (Tm)	6	70,4	0,27	0,38	100 %
3 x la LoD SV124	ADV (Ct)	6	-	-	-	100 %
Nég	ASV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		6	27,14	0,36	1,32	100 %
3 x la LoD SV124		6	-	-	-	100 %

Un exemple des résultats de la répétabilité intra-session (sur un seul jour) sur le ELITe InGenius est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 25

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	NV (Ct)	6	-	-	-	100 %
		6	29,91	0,41	1,38	100 %
3 x la LoD NV+RV		NV (Tm)	6	69,0	0,05	0,07
3 x la LoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		6	-	-	-	100 %
Nég	SV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		6	32,94	0,83	2,52	100 %
Nég	RV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		6	30,01	0,23	0,76	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		6	-	-	-	100 %
Nég	ADV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		6	34,32	0,64	1,86	100 %
	ADV (Tm)	6	71,0	0,16	0,23	100 %
3 x la LoD SV124	ADV (Ct)	6	-	-	-	100 %

Tableau 25 (continued)

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	ASV (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		6	27,26	0,46	1,70	100 %
3 x la LoD SV124		6	-	-	-	100 %

Un exemple des résultats de la répétabilité inter-sessions (sur deux jours) sur le ELITe BeGenius est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 26

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	NV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		12	30,97	0,43	1,39	100 %
	NV (Tm)	12	68,4	0,16	0,24	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		12	-	-	-	100 %
Nég	SV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		12	32,37	0,45	1,39	100 %
Nég	RV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		12	30,07	0,27	0,89	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		12	-	-	-	100 %
Nég	ADV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		12	33,80	0,71	2,10	100 %
		ADV (Tm)	12	70,3	0,24	0,34
3 x la LoD SV124	ADV (Ct)	12	-	-	-	100 %
Nég	ASV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		12	27,02	0,33	1,22	100 %
3 x la LoD SV124		12	-	-	-	100 %

Un exemple des résultats de la répétabilité inter-sessions (sur deux jours) sur le ELITe InGenius est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 27

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	NV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		12	30,08	0,46	1,53	100 %
	NV (Tm)	12	68,9	0,11	0,16	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		12	-	-	-	100 %
Nég	SV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		12	32,74	0,78	2,37	100 %
Nég	RV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		12	30,18	0,40	1,32	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		12	-	-	-	100 %
Nég	ADV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		12	34,44	0,63	1,82	100 %
	ADV (Tm)	12	71,0	0,14	0,19	100 %
3 x la LoD SV124	ADV (Ct)	12	-	-	-	100 %
Nég	ASV (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		12	27,03	0,41	1,51	100 %
3 x la LoD SV124		12	-	-	-	100 %

Dans le test de répétabilité, le GI Viral PLUS ELITE MGB Kit a détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct des cibles (en tant que % CV) inférieure à 5 %.

11.11 Reproductibilité

La reproductibilité du test a été évaluée sur les ELITE BeGenius et ELITE InGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de selles natives qui étaient négatifs ou avaient été dopés avec des matériels de référence de norovirus GII, adénovirus F40, rotavirus, astrovirus et sapovirus GI/II/IV (ZeptoMetrix, ATCC et ADN plasmidique d'EG SpA).

Les résultats de la reproductibilité inter-lots (sur six jours et avec trois lots) sur le ELITE BeGenius sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 28

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	31,95	0,91	2,85	100 %
	NV (Tm)	36	68,5	0,17	0,25	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	-	-	-	100 %
Nég	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	32,49	0,39	1,19	100 %
Nég	RV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	30,60	0,56	1,82	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	-	-	-	100 %
Nég	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	33,12	0,75	2,27	100 %
	ADV (Tm)	36	70,3	0,41	0,58	100 %
3 x la LoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
Nég	ASV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	28,15	0,97	3,44	100 %
3 x la LoD SV124		36	-	-	-	100 %

Les résultats de la reproductibilité inter-lots (sur six jours et avec trois lots) sur le ELITe InGenius sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 29

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	30,54	0,55	1,80	100 %
	NV (Tm)	36	69,1	0,21	0,30	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	-	-	-	100 %

Tableau 29 (continued)

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	32,75	0,57	1,74	100 %
Nég	RV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	30,41	0,41	1,35	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	-	-	-	100 %
Nég	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	33,66	0,78	2,31	100 %
3 x la LoD SV124	ADV (Tm)	36	70,8	0,30	0,43	100 %
3 x la LoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
Nég	ASV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	-	-	-	100 %

Les résultats de la reproductibilité inter-instruments (sur six jours, avec trois lots et trois instruments) sur le ELITe BeGenius sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 30

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	31,73	0,93	2,93	100 %
3 x la LoD NV+RV	NV (Tm)	36	68,6	0,24	0,36	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	-	-	-	100 %
Nég	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	32,45	0,44	1,35	100 %

Tableau 30 (continued)

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	RV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	30,80	0,53	1,73	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	-	-	-	100 %
Nég	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	32,91	0,68	2,07	100 %
3 x la LoD SV124	ADV (Tm)	36	70,5	0,37	0,52	100 %
3 x la LoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
Nég	ASV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	28,26	0,95	3,35	100 %
3 x la LoD SV124		36	-	-	-	100 %

Les résultats de la reproductibilité inter-instruments (sur six jours, avec trois lots et trois instruments) sur le ELITE InGenius sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 31

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	30,74	0,62	2,02	100 %
		NV (Tm)	36	69,1	0,21	0,30
3 x la LoD ADV-F40+ASV	NV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	-	-	-	100 %
Nég	SV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	32,66	0,47	1,43	100 %
Nég	RV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	30,28	0,42	1,38	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SV124		36	-	-	-	100 %

Tableau 31 (continued)

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	32,78	0,63	1,91	100 %
	ADV (Tm)	36	70,8	0,37	0,52	100 %
3 x la LoD SV124	ADV (Ct)	36	-	-	-	100 %
Nég	ASV (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD NV+RV		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD ADV-F40+ASV		36	25,57	0,88	3,18	100 %
3 x la LoD SV124		36	-	-	-	100 %

Dans le test de reproductibilité, le GI Viral PLUS ELITE MGB Kit a détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct des cibles (en tant que % CV) inférieure à 5 %.

11.12 Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en association avec le ELITE InGenius en analysant des échantillons cliniques de selles collectés sans conservateurs et certifiés négatifs pour chaque cible.

Étant donné que le ELITE BeGenius présente des performances analytiques équivalentes à celles du ELITE BeGenius, les performances diagnostiques du test réalisé sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. Par conséquent, la spécificité diagnostique du test obtenue en association avec le ELITE InGenius s'applique également au ELITE BeGenius.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 32

Selles négatives testées pour la cible	N	Positif	Négatif	Spécificité diagnostique (%)
Adénovirus F40/F41	101	0	101	100 %
Norovirus GI/GII	101	0	101	100 %
Rotavirus	101	0	101	100 %
Astrovirus	100	0	100	100 %
Sapovirus	101	0	101	100 %

Tous les échantillons de selles étaient négatifs et valides pour l'analyse.

Dans ce test, la spécificité diagnostique du GI Viral PLUS ELITE MGB Kit en association avec des échantillons de selles était de 100 % pour toutes les cibles.

La valeur seuil Ct de l'IC est définie à 34 pour le ELITE InGenius et à 35 pour le ELITE BeGenius.

11.13 Sensibilité diagnostique : confirmation des échantillons positifs

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en association avec le ELITE InGenius en analysant des échantillons cliniques de selles collectés sans conservateurs et certifiés positifs pour chaque cible.

Étant donné que le ELITE BeGenius présente des performances analytiques équivalentes à celles du ELITE InGenius, les performances diagnostiques du test réalisé sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. Par conséquent, la sensibilité diagnostique du test obtenue en association avec le ELITE InGenius s'applique également au ELITE BeGenius.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 33

Selles positives testées pour la cible	N	Positif	Négatif	Sensibilité diagnostique (%)
Adénovirus F40	15	15	0	100 %
Adénovirus F41	35	35	0	
Norovirus GI	20	13	7	92,9 %
Norovirus GII	120	117	3	
Rotavirus	50	50	0	100 %
Astrovirus	50	50	0	100 %
Sapovirus	55	51	4	92,7 %

Dans ce test, la sensibilité diagnostique du GI Viral PLUS ELITE MGB Kit en association avec des échantillons de selles était de 100 % pour l'ADV F40/F41, de 92,9% pour le NV GI/GII, de 100% pour le RV, de 100% pour l'ASV et de 92,7% pour le SV.

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 « GI Viral PLUS ELITE MGB Kit », FTP 501ING.

12 BIBLIOGRAPHIE

- V. P. Ramanan et al. (2017) *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 87: 325-327
- Y. Liu et al. (2012) *J. Clin. Microbiol.* 50: 2384 - 2389
- F. Jakab et al. (2019) *J. Med. Virol.* 74: 71 - 7
- S. Q. Zeng et al. (2008) *J. Virol. Methods* 153: 238 - 240
- M. Diez-Valcarce et al. (2018) *J. Clin Virol.* 104: 65 - 72
- E. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e 30
- P. Chhabra et al. (2019) *J. Gen. Virol.* 100: 1393 - 1406
- K. Kumthip et al. (2019) *Ann Res Hosp* 3: 1 - 3
- B. Lopman et al. (2015) *CDC Review*: 1-44

13 LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser ce produit uniquement avec les échantillons cliniques suivants : échantillons de selles natives ou de selles collectées dans un milieu FecalSwab.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

En cas de co-infections, la sensibilité d'une cible peut être affectée par l'amplification d'une seconde cible (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

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

D'éventuels polymorphismes, insertions ou délétions au sein de la région de l'ADN ou de l'ARN ciblé par les amorces et les sondes du produit peuvent affecter la détection et le typage de l'ADN ou l'ARN cible.

En cas d'occurrence d'une espèce d'adénovirus C ou G dans l'échantillon, le produit la détectera comme une cible d'adénovirus sans détermination du typage.

En cas d'occurrence d'une espèce d'adénovirus D dans l'échantillon, le produit la détectera et la typera comme un adénovirus de sérotype F41.

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

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

Néanmoins, ce risque résiduel associé à l'utilisation prévue du produit a été évalué comme acceptable au regard des avantages potentiels pour le patient.

14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Tableau 34

Réaction du Contrôle positif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet et du Contrôle positif. Vérifier les volumes du mélange réactionnel complet et du Contrôle positif.
Erreur de préparation du mélange réactionnel complet.	Vérifier le volume des réactifs utilisés pendant la préparation du mélange réactionnel complet.
Dégradation du mélange réactionnel complet ou de ses composants.	Ne pas réutiliser le mélange réactionnel complet ; il doit être fraîchement préparé pour chaque session de travail. Ne pas laisser le PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Ne pas exposer le RT EnzymeMix à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes. Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.
Dégradation de la matrice du Contrôle interne.	Utiliser une nouvelle aliquote du Contrôle interne
Dégradation du Contrôle positif.	Ne pas utiliser le Contrôle positif pendant plus de 4 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans la « Extraction Area » [Zone d'extraction] ou dans la Cooler Unit). Utiliser une nouvelle aliquote du Contrôle positif.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 35

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

Tableau 36

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet, de l'Internal Control et de l'échantillon. Vérifier le volume du mélange réactionnel complet, de l'internal control et de l'échantillon.
Erreur de préparation du mélange réactionnel complet.	Vérifier le volume des réactifs utilisés pendant la préparation du mélange réactionnel complet.
Dégradation du mélange réactionnel complet ou de ses composants.	Ne pas réutiliser le mélange réactionnel complet ; il doit être fraîchement préparé pour chaque session de travail. Ne pas laisser le PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Ne pas exposer le RT EnzymeMix à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes. Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.
Dégradation de la matrice du Contrôle interne.	Utiliser une nouvelle aliquote du Contrôle interne
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification avec une dilution à 1:2 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « PCR Only » (PCR seulement). Répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon pré-traité 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 37

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 38

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.	<p>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.</p> <p>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.</p> <p>Si une valeur Ct est requise :</p> <ul style="list-style-type: none"> - répéter l'amplification de l'échantillon élué avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). - répéter l'extraction de l'échantillon prétraité 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 39

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.	<p>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.</p> <p>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.</p> <p>Introduire les échantillons dans les dernières positions des instruments, comme indiqué par la GUI. Suivre la séquence de chargement indiquée par le logiciel.</p>
Contamination environnementale du laboratoire.	<p>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.</p> <p>Effectuer un cycle de décontamination U.V.</p> <p>Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet et/ou utiliser une nouvelle aliquote de CPE.</p>

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.

17 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

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

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

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

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

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

Appendix A GI Norovirus PLUS ELITE MGB® Kit utilisé en association avec les plateformes Genius series®



ATTENTION

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

Application

Le produit **GI Viral PLUS 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 multiplexe de transcription inverse et de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la **détection et l'identification** de l'ADN génomique d'adénovirus (ADV), et de l'ARN génomique de norovirus (NV), rotavirus (RV), astrovirus (ASV) et sapovirus (SV), extrait d'échantillons cliniques.

Le test est capable de détecter l'ADN des adénovirus appartenant aux sérotypes F40 et F41 (typés par une analyse de fusion), l'ARN des norovirus appartenant aux génogroupes GI et GII (typés par une analyse de fusion), des rotavirus appartenant au groupe A, des astrovirus humains et des sapovirus humains.

Le test est validé en association avec les instruments **ELITE InGenius®** et **ELITE BeGenius®**, des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, de transcription inverse, de PCR en temps réel et d'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons de selles humaines.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic des infections virales gastrointestinales chez les patients suspectés de présenter une infection par un adénovirus, norovirus, rotavirus, astrovirus ou sapovirus.

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	Polyprotéine GI et GII	FAM	NV
Cible 2	Protéine de capsid	AP690	ASV
Cible 3	Protéine hexon F40 et F41	AP639	ADV
Cible 4	NSP3 groupe A	AP593	RV
Cible 5	Polyprotéine GI/GII/GIV et GV	AP559	SV
Contrôle interne	phage MS2	AP525	IC

Matrice validée

- Selles natives collectées sans conservateurs
- Selles collectées dans un milieu FecalSwab (milieu Cary-Blair modifié)

Contenu du kit et produits associés

GI Viral PLUS ELITE MGB Kit (RTS501ING)		GI Viral PLUS - ELITE Positive Control (CTR501ING)	
 X 4	 X 2	 X 3	
GI-V PCR Mix 4 tubes de 600 µL 24 réactions par tube 96 réactions par kit 5 cycles de congélation/décongélation par tube	RT EnzymeMix 2 tubes de 20 µL 48 réactions par tube 96 réactions par kit 10 cycles de congélation/décongélation	GI-V Positive Control 3 tubes de 160 µL 4 réactions par tube 12 réactions par kit 4 cycles de congélation/décongélation	
Durée de conservation maximale :	18 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

Tableau 40

<ul style="list-style-type: none"> 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) 	<ul style="list-style-type: none"> CPE – Internal Control : CTCPE InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Allemagne, réf. 19593) ou dispositif équivalent. Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italie, réf. 518CS01) ou dispositif équivalent. FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italie, réf. 470CE) ou dispositif équivalent.
---	--

Protocole ELITE InGenius et ELITE BeGenius

<ul style="list-style-type: none"> Volume d'échantillon Volume de CPE Volume d'élution total 	<ul style="list-style-type: none"> 200 µL 10 µL 100 µL 	<ul style="list-style-type: none"> Volume initial d'éluat de PCR Volume de GI-NV PCR Mix Fréquence des contrôles 	<ul style="list-style-type: none"> 10 µL 20 µL 15 jours
---	---	---	--

Performances avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius

Matrice	Cible	Limite de détection	Sensibilité	Spécificité
Selles natives/selles collectées dans un milieu FecalSwab	Norovirus GI	219 TCID ₅₀ /mL	92,9 % (130/140)	100 % (101/101)
	Norovirus GII	151 TCID ₅₀ /mL		
	Astrovirus	690 TCID ₅₀ /mL	100 % (50/50)	100 % (100/100)
	Adénovirus F40	0,082 TCID ₅₀ /mL	100 % (50/50)	100 % (101/101)
	Adénovirus F41	0,006 TCID ₅₀ /mL		
	Rotavirus	2,4 TCID ₅₀ /mL	100 % (50/50)	100 % (101/101)
	Sapovirus GV	792 copies/mL	92,7 % (51/55)	100 % (101/101)
	Sapovirus GI/II/IV	1119 copies/mL		

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
Selles	collectées sans conservateurs	≤ 24 heures	≤ 48 heures	≤ 1 mois	≤ 2 mois
	collectées dans un milieu FecalSwab	≤ 48 heures	≤ 5 jours	≤ 1 mois	≤ 2 mois

NOTE!

Conformément à la procédure décrite dans le mode d'emploi complet, les échantillons doivent être prétraités avant utilisation.

Procédures ELITE InGenius

L'interface graphique du logiciel ELITE InGenius guide l'utilisateur, étape par étape, pour paramétrer l'analyse. Toutes les étapes, à savoir extraction, transcription inverse, PCR en temps réel et 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

<p>1. Mettre l'ELITE InGenius en marche. Se connecter avec le nom d'utilisateur et le mot de passe. Sélectionner le mode « CLOSED » (Fermé).</p>	<p>2. Vérifier les contrôles : Positive Control et Negative Control dans le menu « Controls » (Contrôles). Remarque : ces deux contrôles doivent avoir été analysés, approuvés et ne pas être expirés.</p>	<p>3. Décongeler les tubes de PCR Mix et CTRCPE. Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s.</p>
--	--	---

4. Préparer le mélange réactionnel complet.			5. Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s. Conserver le mélange réactionnel complet sur de la glace. Ne pas l'exposer à la lumière directe.
Nombre d'échantillons (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix	
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$N = 12$	290 μL	4,4 μL	

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile	2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 μL », élution : « 100 μL »	3. Scanner les codes-barres des échantillons à l'aide du lecteur de codes-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon
4. Sélectionner le « Protocole de test » (Assay Protocol) souhaité : GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100	5. Sélectionner la méthode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) et la position d'échantillon « Extraction Tube » (Tube d'extraction)	6. Charger le mélange réactionnel complet et le Contrôle interne dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7 Charger : la cassette de PCR, la cartouche d'extraction, le tube d'élution, la cassette à embouts, les racks de tubes d'extraction	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

NOTE!

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile	2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 μL », élution : « 100 μL »	3. Scanner les codes-barres des échantillons à l'aide du lecteur de codes-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon
4. Sélectionner le « Protocole de test » (Assay Protocol) souhaité : GI Viral PLUS ELITE_ST_200_100 ou GI Viral PLUS ELITE_PC ou GI Viral PLUS ELITE_NC	5. Sélectionner la méthode « PCR Only » (PCR seulement) et la position de l'échantillon « Elution Tube » (Tube d'élution)	6. Charger le mélange réactionnel complet dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7 Charger le rack de la PCR Cassette (Cassette de PCR) et le rack de tubes d'élution avec l'acide nucléique extrait	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

Procédures ELITE BeGenius

L'interface graphique du logiciel ELITE BeGenius guide l'utilisateur, étape par étape, pour paramétrer l'analyse. Toutes les étapes, à savoir extraction, transcription inverse, PCR en temps réel et 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

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

4. Préparer le mélange réactionnel complet.			<p>5. Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s. Conserver le mélange réactionnel complet sur de la glace. Ne pas l'exposer à la lumière directe.</p>
Nombre d'échantillons (N)	PCR Mix	RT EnzymeMix	
$1 \leq N \leq 5$	$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$6 \leq N \leq 11$	$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$N = 12$	290 μL	4,4 μL	
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$	
$N = 24$	580 μL	8,7 μL	

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

<p>1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile puis cliquer sur le mode d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR)</p>	<p>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</p>	<p>3. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 μL », Éluat : « 100 μL »</p>
<p>4. Sélectionner le « Protocole de test » (Assay Protocol) souhaité : GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100 Remarque : si une deuxième extraction est exécutée, répéter les étapes 2 à 4</p>	<p>5. Imprimer les étiquettes à code-barres pour les apposer sur les tubes d'éluat vides. Charger les tubes dans le « Elution Rack » (Rack d'éluat) et insérer ce dernier dans la Cooler Unit.</p>	<p>6. Charger le mélange réactionnel complet et le Contrôle interne dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluat) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.</p>
<p>7. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) et le « Extraction Rack » (Portoir d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITE InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis.</p>	<p>8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle</p>	<p>9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats</p>

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

<p>1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile, puis cliquer sur le mode d'analyse « PCR Only » (PCR seulement)</p>	<p>2. Charger les tubes à code-barres contenant les acides nucléiques extraits ou les contrôles dans le « Elution Rack » (Rack d'éluat) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.</p>	<p>3. Pour les contrôles : pour chaque « Position », entrer le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), l'« Exp.Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions). Pour les éluats : pour chaque « Position », entrer le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), l'« Extraction kit » (Kit d'extraction) et l'« Extracted eluate vol. » (volume d'éluat extrait).</p>
<p>4. Sélectionner le « Protocole de test » (Assay Protocol) souhaité : GI Viral PLUS ELITE_Be_ST_200_100 ou GI Viral PLUS ELITE_Be_PC ou GI Viral PLUS ELITE_Be_NC</p>	<p>5. Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluat) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit</p>	<p>6. Charger le « PCR Basket » (Panier de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR)</p>
<p>7. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle</p>	<p>8. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats</p>	

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

