

Instructions for use

BCR-ABL Dx ELITe MGB® Kit

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



REF RTSG07ING

UDI 08033891487485

CE **IVD**
0123

HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Révision	Avis de modification	Date (jj/mm/aa)
03	Mise à jour des paragraphes 11.10 et 11.11 : corrections d'erreurs typographiques Extension de la validité du produit après ouverture Mise à jour du paragraphe « Avis aux utilisateurs »	27/08/25
02	Mise à jour du paragraphe « Symboles » avec le symbole « Consulter le mode d'emploi » Mise à jour des paragraphes 9.2 et 10.2 : durée de la session d'analyse pour le Contrôle positif Mise à jour des paragraphes 11.4 et 11.5 : explication de la quantité des substances interférentes dans le test Mise à jour des paragraphes 11.10 et 11.11 : explication différente des résultats du test	30/01/25
01	Nouveau développement de produit	26/07/24

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.....	6
5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	7
6 AUTRES PRODUITS REQUIS.....	7
7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS.....	8
8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES.....	9
9 PROCÉDURE AVEC LE ELITe InGenius	13
10 PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius	22
11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	28
12 BIBLIOGRAPHIE	51
13 LIMITES DE LA PROCÉDURE.....	51
14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS	52
15 LÉGENDE DES SYMBOLES.....	56
16 AVIS AUX UTILISATEURS.....	56
17 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	57
Appendix A QUICK START GUIDE.....	58

1 APPLICATION

Le produit **BCR-ABL Dx 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 de l'ARNm, extrait d'échantillons cliniques, du réarrangement *BCR::ABL* (BCR-ABL), et la discrimination des principaux variants.

Le test est capable de détecter et d'identifier **p190 e1a2**, **p195 e6a2**, **p200 e8a2**, **p210 e13a2** et **e14a2** (typage par analyse de fusion), **p230 e19a2** dans la première réaction et **p190 e1a3**, **p195 e6a3**, **p200 e8a3**, **p210 e13a3** et **e14a3** (typage par analyse de fusion), **p230 e19a3** dans la deuxième réaction.

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 humains de leucocytes du sang périphérique (PBL).

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic de la leucémie positive pour *BCR::ABL* chez les patients suspectés de présenter une leucémie associée au réarrangement *BCR::ABL*.

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 qui détecte et identifie les ARNm des principales isoformes de BCR-ABL dans de l'ARN total, isolé à partir d'échantillons de PBL, qui est ensuite soumis à une transcription inverse et amplifié dans deux réactions en utilisant les mélanges réactionnels complets **BCR-ABL a2** et **BCR-ABL a3**, qui contiennent des amorces et des sondes dotées de la technologie ELITE MGB.

Tableau 1

ARNm des isoformes de BCR-ABL détectés		
	BCR-ABL a2 PCR Mix	BCR-ABL a3 PCR Mix
p190	e1a2	e1a3
p195	e6a2	e6a3
p200	e8a2	e8a3
p210 (typage par analyse de fusion)	e13a2	e13a3
	e14a2	e14a3
p230	e19a2	e19a3

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 **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** fournit les composants suivants :

- le **BCR-ABL a2 PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amorces et les sondes spécifiques pour :

- l'ARNm de p190 e1a2, détecté dans le Canal **p190a2** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée avec le colorant FAM,
- l'ARNm de p195 e6a2, détecté dans le Canal **p195a2** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée avec le colorant AquaPhluor® 593 (AP593),
- l'ARNm de p200 e8a2, détecté dans le Canal **p200a2** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée avec le colorant AquaPhluor 559 (AP559),
- les ARNm de p210 e13a2 et e14a2, détectés dans le Canal **p210a2** ; les sondes sont stabilisées par le groupe MGB, désactivées par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquées avec le colorant AquaPhluor 639 (AP639),
- l'ARNm de p230 e19a2, détecté dans le Canal **p230a2** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée avec le colorant AquaPhluor 690 (AP690),
- l'ARNm d'ABL, en tant que Contrôle interne endogène, détecté dans le Canal **ICa2** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée avec le colorant AquaPhluor 525 (AP525),

Le **BCR-ABL a2 PCR Mix** contient également un tampon, du chlorure de magnésium, des nucléotides triphosphates, et l'enzyme ADN polymérase avec activation thermique (Hot start).

- le **BCR-ABL a3 PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amorces et les sondes spécifiques pour :
 - l'ARNm de p190 e1a3, détecté dans le Canal **p190a3** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée avec le colorant FAM,
 - l'ARNm de p195 e6a3, détecté dans le Canal **p195a3** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée avec le colorant AquaPhluor 593 (AP593),
 - l'ARNm de p200 e8a3, détecté dans le Canal **p200a3** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée avec le colorant AquaPhluor 559 (AP559),
 - les ARNm de p210 e13a3 et e14a3, détectés dans le Canal **p210a3** ; les sondes sont stabilisées par le groupe MGB, désactivées par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquées avec le colorant AquaPhluor 639 (AP639),
 - l'ARNm de p230 e19a3, détecté dans le Canal **p230a3** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée avec le colorant AquaPhluor 690 (AP690), stabilisé par le groupe MGB et désactivé par le désactivateur EDQ,
 - l'ARNm d'ABL, en tant que Contrôle interne endogène, détecté dans le Canal **ICa3** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée avec le colorant AquaPhluor 525 (AP525).

Le **BCR-ABL a3 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 **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **48 tests** sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, en utilisant 20 µL des PCR Mix et 0,3 µL de RT EnzymeMix par réaction.

Le **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** peut également être utilisé en association avec des instruments équivalents.

4 MATÉRIEL FOURNI

Tableau 2

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
BCR-ABL a2 PCR Mix réf. RTSG07INGA2	Mélange de réactifs pour la transcription inverse et la PCR en temps réel dans un tube doté d'un capuchon BLANC	2 x 600 µL	-
BCR-ABL a3 PCR Mix réf. RTSG07INGA3	Mélange de réactifs pour la transcription inverse et la PCR en temps réel dans un tube doté d'un capuchon JAUNE	2 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).
- Micropipettes et embouts stériles avec filtre pour aérosols ou embouts stériles à déplacement positif (plage de volumes : 0,5-1000 µL).
- Tube de 50 mL à capuchon vissant (Sarstedt, Allemagne, réf. 62.547.254).
- Tube de 15 mL à capuchon vissant (Sarstedt, Allemagne, réf. 62.554.502).
- Tube de 2,0 mL à collerette et à capuchon vissant (Sarstedt Réf. 72.694.005).
- Eau de qualité biologie moléculaire.

6 AUTRES PRODUITS REQUIS

Les réactifs pour l'extraction de l'échantillon, 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 3

Instruments et logiciels	Produits et réactifs
ELITe InGenius (EG SpA, réf. INT030). ELITe InGenius Software version 1.3.0.19 (ou versions ultérieures). BCR-ABL a2 ELITe_PC BCR-ABL a3 ELITe_PC Protocoles de test (Assay Protocols) contenant les paramètres pour l'analyse des Contrôles positifs BCR-ABL a2 ELITe_NC BCR-ABL a3 ELITe_NC Protocoles de test (Assay Protocols) contenant les paramètres pour l'analyse des Contrôles négatifs BCR-ABL a2 ELITe_PBL_200_100 BCR-ABL a3 ELITe_PBL_200_100 Protocoles de test (Assay Protocols) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de PBL.	ELITe InGenius SP RNA (EG SpA, réf. INT034SPRNA) ELITe InGenius DNase I (EG SpA. INT034DNASE). Alternative Caps For Extraction Tubes (EG SpA, réf. 925-CAP) avec le ELITe InGenius uniquement (facultatif). ELITe InGenius DNase tube adapter Kit (EG S.p.A. réf. G6431-000). BCR-ABL Dx - ELITe Positive Control (EG SpA, réf. CTRG07ING). Cell Lysis Solution (Promega, code A7933 ou réactif équivalent). RNA Lysis Buffer (Promega, code Z3051 ou réactif équivalent). Thioglycerol (Promega, code A208B-C ou réactif équivalent). Consommables pour ELITe InGenius et ELITe BeGenius (voir le mode d'emploi des instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius)
ELITe BeGenius (EG SpA, réf. INT040). ELITe BeGenius Software version 2.2.1 (ou versions ultérieures). BCR-ABL a2 ELITe_Be_PC BCR-ABL a3 ELITe_Be_PC Protocoles de test (Assay Protocols) contenant les paramètres pour l'analyse des Contrôles positifs BCR-ABL a2 ELITe_Be_NC BCR-ABL a3 ELITe_Be_NC Protocoles de test (Assay Protocols) contenant les paramètres pour l'analyse des Contrôles négatifs BCR-ABL a2 ELITe_Be_PBL_200_100 BCR-ABL a3 ELITe_Be_PBL_200_100 Protocoles de test (Assay Protocols) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de PBL.	

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.

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

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

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

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

Les produits d'extraction doivent être manipulés de manière à réduire la dispersion dans l'environnement afin d'éviter tout risque de contamination.

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

7.3 Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Tableau 4

Composant	Température de stockage	Utilisation après la première ouverture	Cycles de congélation/décongélation
BCR-ABL a2 PCR Mix	-20 °C ou température plus basse (à l'abri de la lumière)	60 jours	jusqu'à cinq
BCR-ABL a3 PCR Mix			
RT EnzymeMix	-20 °C ou température plus basse	60 jours	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 5

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation
		+16/+26 °C (température ambiante)
Sang périphérique	prélevé sur EDTA ou sur citrate de sodium	dans les 24 heures et au plus tard 48 heures

NOTE!

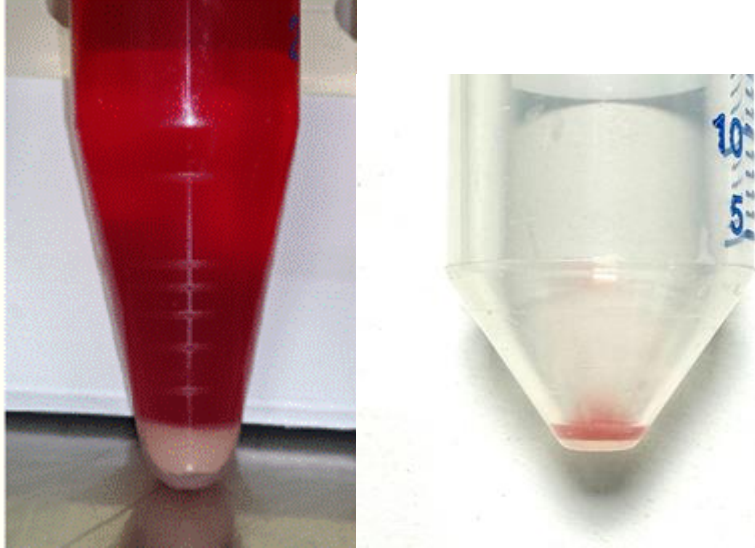
ne pas congeler le sang périphérique afin d'éviter toute dégradation de l'ARN.

Avec du sang périphérique, il est obligatoire de séparer les leucocytes conformément aux indications suivantes.

Tableau 6

	A. Procédure de pré-traitement pour l'isolement des leucocytes avec une couche leucocyto-plaquettaire	A. Procédure de pré-traitement pour l'isolement des leucocytes avec une lyse directe
1	Préparer les tubes de 15 mL et les tubes de 2 mL nécessaires et les marquer avec un marqueur permanent.	Préparer les tubes de 50 mL et les tubes de 2 mL nécessaires et les marquer avec un marqueur permanent.
2	Non applicable	Distribuer la Cell Lysis Solution (Promega, réf. A7933) dans un tube de 50 mL : utiliser 15 mL avec 5 mL de sang ou 30 mL avec 10 mL de sang (rapport de 3:1).
3	Mélanger minutieusement par inversion les échantillons de sang périphérique prélevé sur EDTA ou citrate de sodium.	
4	Transférer 5-10 mL de sang périphérique frais dans le tube de 15 mL.	Transférer 5-10 mL de sang périphérique frais dans le tube de 50 mL.
5	Centrifuger pendant 10 minutes à 3 000 tr/min (sans utiliser le frein).	Non applicable
6	Distribuer 5 mL de Cell Lysis Solution (Promega, réf. A7933) dans un nouveau tube de 15 mL.	Non applicable
7	À l'aide d'une pipette de 1 mL, prélever la couche leucocyto-plaquettaire obtenue après la centrifugation puis la transférer dans le tube de 15 mL contenant la Cell Lysis Solution. Immerger le cône dans la solution jusqu'à ce qu'il ne comporte plus de cellules.	Non applicable
8	Incuber à température ambiante pendant 10 minutes en mélangeant par inversion (pas d'agitation au vortex) au moins 3-4 fois.	
9	Centrifuger pendant 10 minutes à 3 000 tr/min .	

Tableau 6 (continued)

	A. Procédure de pré-traitement pour l'isolement des leucocytes avec une couche leucocyto-plaquettaire	A. Procédure de pré-traitement pour l'isolement des leucocytes avec une lyse directe
10	NOTE! la quantité idéale de globules blancs est représentée, à l'échelle 1:1, sur l'image suivante.  • Si le culot est moins important ou équivalent à celui illustré ci-dessus, prélever le surnageant, remettre le culot en suspension dans 1,5 mL de Cell Lysis Solution puis le transférer dans un tube de 2,0 mL. • Si le culot est plus important que celui illustré ci-dessus, prélever le surnageant, remettre le culot en suspension dans 3 mL de Cell Lysis Solution puis transférer 1,5 mL dans deux tubes de 2,0 mL différents.	
11	Centrifuger à nouveau pendant environ 2 minutes à 3 000 tr/min.	
12	Avec précaution, prélever le surnageant (veiller à prélever les traces de globules rouges au-dessus du culot de globules blancs).	
13	Avec précaution, lyser le culot dans 200 µL de solution d'homogénéisation (1 mL de RNA Lysis Buffer, Promega, réf. Z3051 + 20 µL de 1-Thioglycerol, Promega, réf. A208B-C) par pipetage.	

Le lysat de PBL peut être utilisé immédiatement ou conservé dans les conditions suivantes :

Tableau 7

Type d'échantillon	Exigences du tampon	Conditions de stockage	
		-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Lysat de PBL	Solution d'homogénéisation	≤ un mois	≤ un mois

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 8

Protocoles de test pour le BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit				
Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
PBL	ELITe InGenius	BCR-ABL a2 ELITe_PBL_200_100	Positif/Négatif	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 10 µL
		BCR-ABL a3 ELITe_PBL_200_100		
	ELITe BeGenius	BCR-ABL a2 ELITe_Be_PBL_200_100		
		BCR-ABL a3 ELITe_Be_PBL_200_100		

Pour tous les protocoles, 200 µL d'échantillon **pré-traité** doivent être utilisés :

- avec le **ELITe InGenius**, transférer le lysat de PBL contenu dans le tube de 2,0 mL dans un **tube d'extraction** (éviter d'introduire des bulles pendant le pipetage),
- avec le **ELITe BeGenius**, utiliser directement le tube de 2,0 mL contenant le lysat de PBL.

NOTE!

avant de charger les échantillons pré-traités sur les instruments, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Lorsqu'un **Extraction Tube** (Tube d'extraction) est utilisé, il est également recommandé d'utiliser le capuchon dédié (EG SpA, réf. 925-CAP).

NOTE!

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

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 les **BCR-ABL a2 Positive Control** et **BCR-ABL a3 Positive Control**, des composants du produit **BCR-ABL Dx - ELITe Positive Control** (non inclus dans ce kit), avec les protocoles de test (Assay Protocols) respectifs **BCR-ABL a2 ELITe_PC** ou **BCR-ABL a2 ELITe_Be_PC** et **BCR-ABL a3 ELITe_PC** ou **BCR-ABL a3 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) **BCR-ABL a2 ELITe_NC** ou **BCR-ABL a2 ELITe_Be_NC** et **BCR-ABL a3 ELITe_NC** ou **BCR-ABL a3 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 **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit** avec le **ELITe InGenius** comporte trois étapes :

Tableau 9

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

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 (**BCR-ABL a2 Positive Control**, **BCR-ABL a2 Negative Control**, **BCR-ABL a3 Positive Control**, **BCR-ABL a3 Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PCR Mix** (**BCR-ABL a2 PCR Mix** et **BCR-ABL a3 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.

9.2 ÉTAPE 2 - Paramétrage de la session d'analyse

Le **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITe InGenius** pour les opérations suivantes :

- Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement]),
- Analyse 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!

avec le produit **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit**, dans le paramétrage A ou B, deux réactions doivent être effectuées pour chaque échantillon : une avec le **BCR-ABL a2 PCR Mix** (pour les isoformes BCR-ABL a2) et l'autre avec le **BCR-ABL a3 PCR Mix** (pour les isoformes BCR-ABL a3). Un maximum de 6 échantillons peuvent être analysés dans chaque session d'analyse sur le **ELITe InGenius**.

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 :

1. Décongeler les tubes de **BCR-ABL a2 PCR Mix** (capuchon BLANC) et les tubes de **BCR-ABL a3 PCR Mix** (capuchon JAUNE) 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!

garder 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 chaque **mélange réactionnel complet** et le marquer avec un marqueur permanent.
4. Calculer les volumes de **BCR-ABL a2 PCR Mix**, **BCR-ABL a3 PCR Mix** et **RT EnzymeMix** nécessaires à la préparation des **mélanges réactionnels complets** en se basant sur le nombre d'échantillons (N) à analyser, comme décrit dans le tableau suivant.

Tableau 10

Nombre d'échantillons (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix et BCR-ABL a3 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

5. Préparer les **mélanges réactionnels complets** 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 le tube sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

les **mélanges réactionnels complets** peuvent être utilisés dans les 7 heures s'ils sont conservés réfrigérés (pour 2 sessions d'analyse de 3,5 heures chacune). Le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être conservé pour être réutilisé.

NOTE!

les **mélanges réactionnels complets** sont sensibles à la lumière ; ne pas les exposer à la lumière directe.

6. Avec les lysats de PBL (**paramétrage A**), pour chaque échantillon, effectuer une analyse intégrée (mode « Extract + PCR » [Extraction + PCR]) avec le **BCR-ABL a2 PCR Mix** et une analyse d'amplification (mode « PCR Only » [PCR seulement]) avec le **BCR-ABL a3 PCR Mix**.

7. Avec les produits d'extraction (**paramétrage B**), pour chaque échantillon, effectuer deux analyses d'amplification (mode « PCR Only » [PCR seulement]) avec les **BCR-ABL a2 PCR Mix** et **BCR-ABL a3 PCR Mix**.

NOTE!

il est conseillé de créer un modèle sur l'instrument pour faciliter le paramétrage de la session d'analyse (voir le manuel du ELITE InGenius).

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

Tableau 11

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons pré-traités et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou un bloc réfrigéré. Pour cette analyse, 200 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube d'extraction préalablement étiqueté.	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.	Décongeler les tubes des Contrôles positifs (a2 et a3) 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.
2	Non applicable	Non applicable	Préparer les Contrôles négatifs (a2 et a3) 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.
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'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.
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 le protocole de test (Assay Protocol) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles ») : pour chaque échantillon, attribuer le protocole de test a2 (a2 Assay Protocol) et le protocole de test a3 (a3 Assay Protocol) à la position suivante.	Sélectionner le protocole de test (Assay Protocol) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles ») : pour chaque éluat, attribuer le protocole de test a2 (a2 Assay Protocol) et le protocole de test a3 (a3 Assay Protocol) à la position suivante.	Sélectionner les protocoles de test (Assay Protocols) (a2 et a3, se reporter à la section « Échantillons et contrôles ») dans la colonne « Assay » (Analyse). Saisir le numéro de lot et la date de péremption du Contrôle positif et du Contrôle négatif (eau de qualité biologie moléculaire).

Tableau 11 (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
7	Pour le protocole de test a2 (a2 Assay Protocol) : vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est « Extract + PCR » (Extraction + PCR) et sélectionner la « Sample Position » (Position échantillons) en tant que « Extraction Tube » (Tube d'extraction).	Pour le protocole de test a2 (a2 Assay Protocol) : sélectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole) et la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) en tant que « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'éluat [ligne du bas]).	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).
8	Pour le protocole de test a3 (a3 Assay Protocol) : attribuer le « Protocol » (Protocole) « PCR Only » (PCR seulement) et sélectionner, en tant que « Sample Position » (Position échantillons), la position de l'échantillon.	Pour le protocole de test a3 (a3 Assay Protocol) : sélectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole) et la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) en tant que position de l'éluat.	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'éluat [ligne du bas]).
9	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
10	Charger les mélanges réactionnels complets 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 les mélanges réactionnels complets 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 les mélanges réactionnels complets 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.
14	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR), les cartouches d'extraction ELITe InGenius SP RNA, les tubes ELITe InGenius DNase I (débouchés) et tous les consommables requis et échantillons à extraire.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et le tube d'éluat avec les échantillons extraits.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif.
15	Dans l'écran DNase I, insérer « DNase I » en tant que « Reagent Name » (Nom réactif), le numéro de lot et la date de péremption.	Non applicable	Non applicable
16	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
17	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
18	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 **Elution Tube** (Tube d'élution) doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 ± 10 °C pendant un mois maximum. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

NOTE!

les **mélanges réactionnels complets** peuvent être conservés dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant 7 heures maximum (pour 2 sessions d'analyse de 3,5 heures chacune). Mélanger délicatement puis centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante. Le mélange réactionnel complet ne peut pas être conservé pour être réutilisé.

NOTE!

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

NOTE!

le **BCR-ABL a2 Positive Control** et le **BCR-ABL a3 Positive Control** peuvent être utilisés pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

NOTE!

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

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!

lorsque le produit **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** est utilisé, deux cycles d'amplification sont effectués pour chaque échantillon en utilisant le **BCR-ABL a2 PCR Mix** (pour les isoformes BCR-ABL a2) et le **BCR-ABL a3 PCR Mix** (pour les isoformes BCR-ABL a3). L'analyse des résultats doit être exécutée pour les deux cycles.

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 **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

1. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif,
2. Validation des résultats de l'échantillon,
3. Rapport des résultats de l'échantillon.

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

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) **BCR-ABL a2 ELITE_PC**, **BCR-ABL a3 ELITE_PC**, **BCR-ABL a2 ELITE_NC** et **BCR-ABL a3 ELITE_NC**. Les valeurs Ct et de Tm résultantes sont utilisées pour vérifier le système (lot de réactifs et instrument).

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

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

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

NOTE!

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

NOTE!

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

9.3.2 Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELITE InGenius software** interprète les résultats de la PCR pour les cibles (Canaux **p190a2**, **p195a2**, **p200a2**, **p210a2**, **p230a2**) et le Contrôle interne (Canal **ICa2**) avec les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) **BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100** et les cibles (Canaux **p190a3**, **p195a3**, **p200a3**, **p210a3**, **p230a3**) et le Contrôle interne (Canal **ICa3**) avec les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) **BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100**.

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

Les résultats de l'échantillon peuvent être approuvés lorsque les conditions des tableaux ci-dessous sont remplies.

Tableau 12

Analyse avec le BCR-ABL a2 PCR Mix	
1) Contrôle positif	Statut
BCR-ABL a2 Positive Control	APPROUVÉ
2) Contrôle négatif	Statut
BCR-ABL a2 Negative Control	APPROUVÉ

Tableau 13

Analyse avec le BCR-ABL a3 PCR Mix	
1) Contrôle positif	Statut
BCR-ABL a3 Positive Control	APPROUVÉ
2) Contrôle négatif	Statut
BCR-ABL a3 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 les ARN sont détectés ou non détectés.

Tableau 14

Analyse avec le BCR-ABL a2 PCR Mix	
Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
p190a2:RNA Detected e1a2 (p190a2 : ARN détecté, e1a2)	L'ARNm de p190 a été détecté dans l'échantillon. L'isoforme est e1a2 .
p190a2:RNA Detected Typing not determined (p190a2 : ARN détecté. Typing not determined)	L'ARNm de p190 a été détecté mais l'analyse de la Tm n'a pas été possible.
p190a2:RNA Not detected or below the LoD (p190a2 : ARN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARNm de p190 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARNm de p190 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection de l'analyse.
p200a2:RNA Detected e8a2 (p200a2 : ARN détecté, e8a2)	L'ARNm de p200 a été détecté dans l'échantillon. L'isoforme est e8a2 .
p200a2:RNA Detected Typing not determined (p200a2 : ARN détecté. Typing not determined)	L'ARNm de p200 a été détecté mais l'analyse de la Tm n'a pas été possible.
p200a2:RNA Not detected or below the LoD (p200a2 : ARN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARNm de p200 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARNm de p200 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection de l'analyse.
p195a2:RNA Detected e6a2 (p195a2 : ARN détecté, e6a2)	L'ARNm de p195 a été détecté dans l'échantillon. L'isoforme est e6a2 .
p195a2:RNA Detected Typing not determined (p195a2 : ARN détecté. Typing not determined)	L'ARNm de p195 a été détecté mais l'analyse de la Tm n'a pas été possible.
p195a2:RNA Not detected or below the LoD (p195a2 : ARN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARNm de p195 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARNm de p195 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection de l'analyse.
p210a2:RNA Detected e13a2 (p210a2 : ARN détecté, e13a2)	L'ARNm de p210 a été détecté dans l'échantillon. L'isoforme est e13a2 .
p210a2:RNA Detected e14a2 (p210a2 : ARN détecté, e14a2)	L'ARNm de p210 a été détecté dans l'échantillon. L'isoforme est e14a2 .
p210a2:RNA Detected e13a2 e14a2 (p210a2 : ARN détecté, e13a2 e14a2)	L'ARNm de p210 a été détecté dans l'échantillon. Les deux isoformes, e13a2 et e14a2 , sont présentes.
p210a2:RNA Detected Typing not determined (p210a2 : ARN détecté. Typing not determined)	L'ARNm de p210 a été détecté mais l'analyse de la Tm n'a pas été possible.

Tableau 14 (continued)

Analyse avec le BCR-ABL a2 PCR Mix	
Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
p210a2:RNA Not detected or below the LoD (p210a2 : ARN non détecté ou inférieur à la LoD)	L'ARNm de p210 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARNm de p210 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection de l'analyse.
p230a2:RNA Detected e19a2 (p230a2 : ARN détecté, e19a2)	L'ARNm de p230 a été détecté dans l'échantillon. L'isoforme est e19a2 .
p230a2:RNA Detected Typing not determined (p230a2 : ARN détecté. Typing not determined)	L'ARNm de p230 a été détecté mais l'analyse de la Tm n'a pas été possible.
p230a2:RNA Not detected or below the LoD (p230a2 : ARN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARNm de p230 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARNm de p230 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection de l'analyse.
Invalid - Retest Sample (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon).	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Contrôle Interne. Le test doit être répété.

Tableau 15

Analyse avec le BCR-ABL a3 PCR Mix	
Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
p190a3:RNA Detected e1a3 (p190a3 : ARN détecté, e1a3)	L'ARNm de p190 a été détecté dans l'échantillon. L'isoforme est e1a3 .
p190a3:RNA Detected Typing not determined (p190a3 : ARN détecté. Typing not determined)	L'ARNm de p190 a été détecté mais l'analyse de la Tm n'a pas été possible.
p190a3:RNA Not detected or below the LoD (p190a3 : ARN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARNm de p190 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARNm de p190 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection de l'analyse.
p200a3:RNA Detected e8a3 (p200a3 : ARN détecté, e8a3)	L'ARNm de p200 a été détecté dans l'échantillon. L'isoforme est e8a3 .
p200a3:RNA Detected Typing not determined (p200a3 : ARN détecté. Typing not determined)	L'ARN de p200 a été détecté mais l'analyse de la Tm n'a pas été possible.
p200a3:RNA Not detected or below the LoD (p200a3 : ARN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARNm de p200 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARNm de p200 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection de l'analyse.
p195a3:RNA Detected e6a3 (p195a3 : ARN détecté, e6a3)	L'ARNm de p195 a été détecté dans l'échantillon. L'isoforme est e6a3 .
p195a3:RNA Detected Typing not determined (p195a3 : ARN détecté. Typing not determined)	L'ARNm de p195 a été détecté mais l'analyse de la Tm n'a pas été possible.
p195a3:RNA Not detected or below the LoD (p195a3 : ARN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARNm de p195 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARNm de p195 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection de l'analyse.
p210a3:RNA Detected e13a3 (p210a3 : ARN détecté, e13a3)	L'ARNm de p210 a été détecté dans l'échantillon. L'isoforme est e13a3 .
p210a3:RNA Detected e14a3 (p210a3 : ARN détecté, e14a3)	L'ARNm de p210 a été détecté dans l'échantillon. L'isoforme est e14a3 .

Tableau 15 (continued)

Analyse avec le BCR-ABL a3 PCR Mix	
Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
p210a3:RNA Detected e13a3 e14a3 (p210a3 : ARN détecté, e13a3 e14a3)	L'ARNm de p210 a été détecté dans l'échantillon. Les deux isoformes, e13a3 et e14a3 , sont présentes.
p210a3:RNA Detected Typing not determined (p210a3 : ARN détecté. Typing not determined)	L'ARNm de p210 a été détecté mais l'analyse de la Tm n'a pas été possible.
p210a3:RNA Not detected or below the LoD (p210a3 : ARN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARNm de p210 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARNm de p210 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection de l'analyse.
p230a3:RNA Detected e19a3 (p230a3 : ARN détecté, e19a3)	L'ARNm de p230 a été détecté dans l'échantillon. L'isoforme est e19a3 .
p230a3:RNA Detected Typing not determined (p230a3 : ARN détecté. Typing not determined)	L'ARNm de p230 a été détecté mais l'analyse de la Tm n'a pas été possible.
p230a3:RNA Not detected or below the LoD (p230a3 : ARN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ARNm de p230 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARNm de p230 ou sa concentration est inférieure à la limite de détection de l'analyse.
Invalid-Retest Sample (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon)	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Contrôle Interne. 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 « **pXXXXxx:RNA Detected Typing not determined** » (pXXXXxx : ARN détecté. Typing not determined) ne sont pas appropriés pour l'analyse de fusion. Dans ce cas, une valeur Ct a été détectée mais la Tm n'a pas été détectée ou se situe en dehors de la plage établie, ce qui peut être dû à des problèmes lors des étapes de prélèvement de l'échantillon, de pré-traitement, d'extraction, de transcription inverse ou de PCR (par ex. échantillonnage incorrect, dégradation ou perte d'ARN pendant l'extraction, transfert d'inhibiteurs dans l'éluat ou bruit de fond élevé), ce qui peut générer des résultats incorrects.

S'il reste un volume d'éluat suffisant, il est suggéré de tester à nouveau l'échantillon (pur ou dilué) par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR seulement). Si le deuxième résultat est le même, 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 « **pXXXXxx:RNA Not detected or below the LoD** » (pXXXXxx : ARN détecté ou inférieur à LoD) sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter l'ARN de BCR-ABL. Dans ce cas, l'échantillon peut être négatif pour l'ARN de BCR-ABL ou l'ARN de BCR-ABL est présent à une concentration inférieure à la limite de détection de l'analyse (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

NOTE!

En cas de test positif avec plusieurs isoformes, vérifier la valeur Ct de chaque variant. La co-expression des isoformes de BCR-ABL supplémentaires doit uniquement être diagnostiquée lorsque leurs valeurs Ct sont comparables à celle de l'isoforme principale détectée à la valeur Ct la plus basse (voir N. P. C. Cross et al. 2023). Sinon, seule l'isoforme principale ayant la valeur Ct la plus basse doit être rapportée.

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 **BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit** avec le **ELITe BeGenius** comporte trois étapes :

Tableau 16

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 (**BCR-ABL a2 Positive Control**, **BCR-ABL a2 Negative Control**, **BCR-ABL a3 Positive Control**, **BCR-ABL a3 Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PCR Mix** (**BCR-ABL a2 PCR Mix** et **BCR-ABL a3 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 **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITE BeGenius** pour 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!

avec le produit **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit**, dans le paramétrage A ou B, deux PCR doivent être effectuées pour chaque échantillon extrait : une avec le **BCR-ABL a2 PCR Mix** (pour les isoformes BCR-ABL a2) et l'autre avec le **BCR-ABL a3 PCR Mix** (pour les isoformes BCR-ABL a3). Un maximum de 12 échantillons peuvent être analysés dans chaque session d'analyse sur le **ELITE BeGenius**.

NOTE!

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

Avant de paramétrer une analyse :

- Décongeler les tubes de **BCR-ABL a2 PCR Mix** (capuchon BLANC) et les tubes de **BCR-ABL a3 PCR Mix** (capuchon JAUNE) 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!

garder 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 chaque **mélange réactionnel complet** et le marquer avec un marqueur permanent.
- Calculer les volumes de **BCR-ABL a2 PCR Mix**, **BCR-ABL a3 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 17

Nombre d'échantillons (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix et BCR-ABL a3 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
$13 \leq N \leq 18$	$(N + 3) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 3) \times 0,3 \mu\text{L}$

Tableau 17 (continued)

Nombre d'échantillons (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix et BCR-ABL a3 PCR Mix	RT EnzymeMix
$19 \leq N \leq 23$	$(N + 4) \times 20 \mu\text{L}$	$(N + 4) \times 0,3 \mu\text{L}$
$N = 24$	580 μL	8,7 μL

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** peut être utilisé dans les 7 heures s'il est conservé réfrigéré (pour 2 sessions d'analyse de 3,5 heures chacune). Le mélange réactionnel complet **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.

6. Avec les lysats de PBL (**paramétrage A**), pour chaque échantillon, effectuer une analyse intégrée (mode « Extract + PCR » [Extraction + PCR]) en utilisant le **BCR-ABL a2 PCR Mix** et une analyse d'amplification (mode « PCR Only » [PCR seulement]) en utilisant le **BCR-ABL a3 PCR Mix**.
7. Avec les produits d'extraction (**paramétrage B**), pour chaque échantillon, effectuer deux analyses d'amplification (mode « PCR Only » [PCR seulement]) en utilisant les **BCR-ABL a2 PCR Mix** et **BCR-ABL a3 PCR Mix**.

NOTE!

il est conseillé de créer un modèle sur l'instrument pour faciliter le paramétrage de la session d'analyse (voir le manuel du ELITE BeGenius).

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

Tableau 18

	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	Identifier les échantillons pré-traités et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante, mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Pour cette analyse, 200 μL d'échantillon doivent être transférés dans le tube Sarstedt de 2 mL.	Décongeler les tubes d'élution contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes des Contrôles positifs (a2 et a3) 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.
2	Non applicable	Non applicable	Préparer les Contrôles négatifs (a2 et a3) en transférant au minimum 50 μL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élution) fourni avec le ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
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).

Tableau 18 (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])
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.
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 » sont chargés, utiliser les adaptateurs bleus pour le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons).	Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Rack d'élué).	Charger les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif dans le « Elution Rack » (Rack d'élué).
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 « Tube de 2 mL ». Si les tubes secondaires ne comportent pas de codes-barres, saisir manuellement le « Sample ID » [ID échantillon]).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élué) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Pour chaque « Position », saisir le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (Volume d'élué extrait).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élué) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « 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'élué de l'extraction) est de 100 µL.	Non applicable	Non applicable
10	Sélectionner le protocole de test (Assay Protocol) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles ») : pour chaque échantillon à extraire, attribuer les protocoles de test (Assay Protocols) a2 (Extract + PCR [Extraction + PCR]) et a3 (PCR Only [PCR seulement]).	Sélectionner le protocole de test (Assay Protocol) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles ») : pour chaque élué, attribuer les protocoles de test (Assay Protocols) a2 et a3.	Sélectionner le protocole de test (Assay Protocol) (a2 et a3, se reporter à la section « Échantillons et contrôles ») dans la colonne « Assay » (Analyse).
11	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
12	Charger les « Elution tubes » (Tubes d'élué) dans le « Elution Rack » (Rack d'élué) (les tubes d'élué peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité).	Non applicable	Non applicable
13	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élué) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3).	Non applicable	Non applicable

Tableau 18 (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	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Non applicable	Non applicable
15	Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).
16	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Pour chaque réactif PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Pour chaque réactif PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». 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 » (Portoir d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITE InGenius SP RNA », les tubes « ELITE InGenius DNase I » (débouchés) et les consommables d'extraction requis.	Non applicable	Non applicable
23	Dans l'écran DNase I, insérer « DNase I » en tant que « Reagent Name » (Nom réactif), le numéro de lot et la date de péremption.	Non applicable	Non applicable
24	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
25	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 **Elution Tube** (Tube d'élution) doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 ± 10 °C pendant un mois maximum. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

NOTE!

le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 7 heures (pour 2 sessions d'analyse de 3,5 heures chacune). Mélanger délicatement puis centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante. Le mélange réactionnel complet ne peut pas être conservé pour être réutilisé.

NOTE!

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

NOTE!

le **BCR-ABL a2 Positive Control** et le **BCR-ABL a3 Positive Control** peuvent être utilisés pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

NOTE!

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

10.3 ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

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

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

NOTE!

lorsque le produit **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** est utilisé, deux cycles d'amplification sont effectués pour chaque échantillon en utilisant le **BCR-ABL a2 PCR Mix** (pour les isoformes BCR-ABL a2) et le **BCR-ABL a3 PCR Mix** (pour les isoformes BCR-ABL a3). L'analyse des résultats doit être exécutée pour les deux cycles.

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 **BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

1. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif,
2. Validation des résultats de l'échantillon,
3. Rapport des résultats de l'échantillon.

NOTE!

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

11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

11.1 Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du test a été déterminée pour BCR-ABL p210 e14a2 sur l'instrument ELITE BeGenius en testant un matériel de référence d'ARN négatif pour BCR-ABL qui avait été dopé à une faible concentration avec un matériel de référence d'ARN positif pour p210 e14a2 (Invivoscribe).

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 19

Cible	LoD		Limites de l'intervalle de confiance à 95 %	
			Limite inférieure	Limite supérieure
p210 e14a2	Dilution	0,0000259	0,0000148	0,0000694
	Log dilution	-4,6	-4,8	-4,2

L'ARNm de p210 e14a2 dans les échantillons dopés à la concentration de la LoD a ensuite été quantifié, avec un résultat de 8 copies/réaction (% p210 = 0,0066 %). La valeur de la LoD calculée a été vérifiée pour les cibles en testant des ARNm négatifs extraits d'échantillons de PBL qui avaient été dopés avec des ADN plasmidiques pour p190 e1a2, p195 e6a2, p210 e13a2, p210 e14a2, p200 e8a2, p230 e19a2, p190 e1a3, p195 e6a3, p210 e13a3, p210 e14a3, p200 e8a3, p230 e19a3 (GenScript) à la concentration revendiquée sur les ELITE BeGenius et ELITE InGenius. Si nécessaire, la concentration de la cible a été augmentée. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 20

BCR-ABL a2 PCR Mix	
Cible	LoD (copies/réaction)
p190 e1a2	8
p195 e6a2	8
p200 e8a2	50
p210 e13a2	8
p210 e14a2	8
p230 e19a2	20
BCR-ABL a3 PCR Mix	
Cible	LoD (copies/réaction)
p190 e1a3	8
p195 e6a3	20
p200 e8a3	50

Tableau 20 (continued)

BCR-ABL a2 PCR Mix	
p210 e13a3	8
p210 e14a3	20
p230 e19a3	50

Les valeurs de LoD indiquées dans le tableau ont été confirmées sur les ELITE BeGenius et ELITE InGenius.

11.2 Inclusivité : efficacité de détection de différentes isoformes de BCR-ABL

L'inclusivité du test, en tant qu'efficacité de détection des principales isoformes de BCR-ABL, a été évaluée par une analyse in silico. L'analyse a montré un niveau élevé de conservation des séquences et une absence de mutations significatives. On s'attend donc à une amplification et une détection efficaces des isoformes de BCR-ABL.

L'inclusivité a également été vérifiée par l'analyse d'un matériel de référence d'ARN négatif pour BCR-ABL qui avait été dopé avec de l'ARN synthétique (GenScript) pour chaque cible à une faible concentration. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 21

BCR-ABL a2 PCR Mix			
Cible	Isoforme	Pos./rép.	Résultat
p190	e1a2	4/4	p190:RNA Detected e1a2 (p190 : ARN détecté, e1a2)
p195	e6a2	4/4	p195:RNA Detected e6a2 (p195 : ARN détecté, e6a2)
p200	e8a2	4/4	p200:RNA Detected e8a2 (p200 : ARN détecté, e8a2)
p210	e13a2	4/4	p210:RNA Detected e13a2 (p210 : ARN détecté, e13a2)
	e14a2	4/4	p210:RNA Detected e14a2 (p210 : ARN détecté, e14a2)
p230	e19a2	8/8	p230:RNA Detected e19a2 (p230 : ARN détecté, e19a2)
BCR-ABL a3 PCR Mix			
Cible	Isoforme	Pos./rép.	Résultat
p190	e1a3	4/4	p190:RNA Detected e1a3 (p190 : ARN détecté, e1a3)
p195	e6a3	4/4	p195:RNA Detected e6a3 (p195 : ARN détecté, e6a3)
p200	e8a3	4/4	p200:RNA Detected e8a3 (p200 : ARN détecté, e8a3)
p210	e13a3	4/4	p210:RNA Detected e13a3 (p210 : ARN détecté, e13a3)
	e14a3	4/4	p210:RNA Detected e14a3 (p210 : ARN détecté, e14a3)
p230	e19a3	8/8	p230:RNA Detected e19a3 (p230 : ARN détecté, e19a3)

Tous les échantillons ont été correctement détectés par le BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit.

11.3 Interférence entre les cibles

L'interférence potentielle entre les cibles du test a été évaluée par un test de co-amplification dans un matériel de référence d'ARN négatif pour BCR-ABL qui avait été dopé avec des ADN plasmidiques (GenScript) des isoformes les plus fréquentes.

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

Tableau 22

BCR-ABL a2 PCR Mix	
Cible principale à 100 000 copies/réaction	Deuxième cible à une faible concentration
p190 e1a2	p210 e13a2, 100 copies/réaction
	p210 e14a2, 100 copies/réaction
p210 e13a2	p190 e1a2, 100 copies/réaction
	p210 e14a2, 10 000 copies/réaction
p210 e14a2	p190 e1a2, 100 copies/réaction
	p210 e13a2, 1 000 copies/réaction
BCR-ABL a3 PCR Mix	
Cible principale à 100 000 copies/réaction	Deuxième cible à une faible concentration
p190 e1a3	p210 e13a3, 100 copies/réaction
	p210 e14a3, 100 copies/réaction
p210 e13a3	p190 e1a3, 100 copies/réaction
	p210 e14a3, 20 000 copies/réaction
p210 e14a3	p190 e1a3, 100 copies/réaction
	p210 e13a3, 5 000 copies/réaction

Le BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit montre une interférence minimale en cas de co-expression de deux des isoformes de BCR-ABL les plus fréquentes. Avec des canaux différents, la deuxième cible peut être détectée même si sa quantité est environ 1000 fois moindre que la cible principale.

11.4 Marqueurs potentiellement interférents : réactivité croisée

La réactivité croisée potentielle du test avec d'autres marqueurs qui peuvent être présents dans des échantillons de sang total a été évaluée par une analyse *in silico*. L'analyse a montré une absence d'homologie significative avec d'autres marqueurs non souhaitables (réarrangements de gènes humains non souhaitables, virus, bactéries, protozoaires et champignons) et, par conséquent, aucune réactivité croisée n'est attendue.

L'absence de réactivité croisée avec des marqueurs potentiellement interférents a également été vérifiée par l'analyse d'un panel de marqueurs non souhaitables à un titre élevé (Sigma-Aldrich, Invivoscribe, ATCC, ZeptoMetrix) qui a été dopé dans un matériel de référence d'ARN négatif pour BCR-ABL.

Les résultats présentés dans le tableau suivant ont été obtenus avec les BCR-ABL a2 PCR Mix et BCR-ABL a3 PCR Mix.

Tableau 23

Marqueur	Positifs/Réplicats						Résultat
	p190	p200	p195	p210	p230	p190	
ADN génomique humain	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
PML-RAR α	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Inv(16)	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
EBV	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
CMV	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
HHV-6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
HHV-7	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
HHV-8	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
VIH-1	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée

Tous les marqueurs potentiellement interférents testés n'ont montré aucune réactivité croisée à l'aide du BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit.

11.5 Marqueurs potentiellement interférents : inhibition

L'inhibition potentielle du test provoquée par des marqueurs interférents qui peuvent être présents dans des échantillons de sang total a été évaluée par l'analyse d'un panel de marqueurs non souhaitables à un titre élevé (Sigma-Aldrich, Invivoscribe, ATCC, ZepetoMetrix) qui a été dopé avec des ADN plasmidiques (GenScript) de toutes les cibles dans un matériel de référence d'ARN négatif pour BCR-ABL.

Les résultats présentés dans le tableau suivant ont été obtenus avec les BCR-ABL a2 PCR Mix et BCR-ABL a3 PCR Mix.

Tableau 24

Marqueur	Positifs/Réplicats						Résultat
	p190	p200	p195	p210 e13	p210 e14	p230	
ADNgh	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
PML-RAR α	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
Inv(16)	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
EBV	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
CMV	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
HHV-6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
HHV-7	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence

Tableau 24 (continued)

Marqueur	Positifs/Réplicats						Résultat
	p190	p200	p195	p210 e13	p210 e14	p230	
HHV-8	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
VIH-1	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence

Tous les marqueurs potentiellement interférents testés n'ont montré aucune inhibition de l'amplification des cibles en utilisant le BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit.

11.6 Substances potentiellement interférentes : réactivité croisée

La réactivité croisée du test exercée par des substances potentiellement interférentes (endogènes et exogènes) qui peuvent être observées dans des échantillons de sang total a été évaluée par l'analyse d'un panel de substances (Sigma-Aldrich) à une concentration pertinente qui avait été dopé dans des échantillons simulés négatifs pour BCR-ABL.

Les résultats présentés dans le tableau suivant ont été obtenus avec les BCR-ABL a2 PCR Mix et BCR-ABL a3 PCR Mix.

Tableau 25

Substance	Positifs/Réplicats					Résultat
	p190	p200	p195	p210	p230	
Hémoglobine	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Bilirubine	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Triglycérides	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
EDTA	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Héparine	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Ganciclovir	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Sulfate d'abacavir	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Cidofovir	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Ribavirine	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Amoxicilline + clavulanate	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Céfpodoxime	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Azithromycine	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée
Ciprofloxacine	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	Aucune réactivité croisée

Le test a montré que toutes les substances testées n'exercent aucune réaction croisée avec les cibles en utilisant le BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit.

11.7 Substances potentiellement interférentes : inhibition

L'inhibition potentielle du test exercée par des substances interférentes (endogènes et exogènes) qui peuvent être présentes dans des échantillons de sang total a été évaluée par l'analyse d'un panel de substances à une concentration pertinente qui avait été dopé avec des ADN plasmidiques de toutes les cibles dans des échantillons simulés négatifs pour BCR-ABL.

Les résultats présentés dans le tableau suivant ont été obtenus avec les BCR-ABL a2 PCR Mix et BCR-ABL a3 PCR Mix.

Tableau 26

Substance	Positifs/Réplicats						Résultat
	p190	p200	p195	p210 e13	p210 e14	p230	
Hémoglobine	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
Bilirubine	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
Triglycérides	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
EDTA	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
Héparine	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
Ganciclovir	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
Sulfate d'abacavir	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
Cidofovir	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
Ribavirine	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
Amoxicilline + clavulanate	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
Céfpodoxime	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
Azithromycine	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence
Ciprofloxacine	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	Aucune interférence

Le test a montré que les substances testées n'inhibent pas la détection des cibles en utilisant le BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit.

11.8 Contamination croisée

L'éventuelle contamination croisée du test pendant l'analyse a été évaluée en testant 60 échantillons simulés négatifs pour BCR-ABL et 60 réplicats d'échantillons simulés positifs pour BCR-ABL qui avaient été dopés avec un ARN synthétique de p210 e14a2 (GenScript) à une concentration de $\sim 1 \times 10^{10}$ copies/mL dans 5 sessions d'analyse.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 27

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

Dans ce test avec le BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit, aucune contamination croisée n'a été détectée (intra-session et inter-sessions).

11.9 Taux de défaillance de l'ensemble du système

Le taux de défaillance de l'ensemble du système pour le test a été évalué en analysant 50 échantillons de PBL négatifs pour BCR-ABL, qui avaient été dopés avec un matériel de référence d'ARN de p190 e1a2 (Invivoscribe) à une faible concentration.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 28

Échantillons	N	Positifs	Négatifs	Taux de défaillance de l'ensemble du système
PBL dopés à une faible concentration	50	50	0	0 %

Dans ce test avec le BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit, tous les échantillons de PBL ont été confirmés comme positifs et le taux de défaillance de l'ensemble du système était de 0 %.

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 simulés négatifs pour BCR-ABL et d'échantillons simulés positifs pour BCR-ABL qui avaient été dopés avec des ARN synthétiques de BCR-ABL (GenScript) de la manière suivante :

- NÉG : échantillon simulé, négatif.
- GROUPE A : échantillon simulé, positif pour p190 e1a2, p210 e14a2, p190 e1a3, p210 e14a3.
- GROUPE B : échantillon simulé, positif pour p195 e6a2, p210 e13a2, p195 e6a3, p210 e13a3.
- GROUPE C : échantillon simulé, positif pour p200 e8a2, p230 e19a2, p200 e8a3, p230 e19a3.

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 29

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyenne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	29,19	0,38	1,31	69,2	0,23	0,33	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %

Tableau 29 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen-ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P195 e6a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	29,99	0,25	0,85	70,0	0,34	0,48	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	28,73	0,46	1,58	67,5	0,42	0,63	100 %
NÉG	P210 e13a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	32,11	0,44	1,38	56,5	0,18	0,31	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	29,51	0,62	2,12	66,2	0,16	0,25	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	30,57	0,70	2,29	71,3	0,50	0,70	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	29,83	0,14	0,46	64,0	0,08	0,12	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	29,85	0,32	1,06	67,5	0,30	0,44	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %

Tableau 29 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyenne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P200 e8a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	28,41	0,27	0,95	67,9	0,17	0,25	100 %
NÉG	P210 e13a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	29,81	0,53	1,79	57,0	0,20	0,35	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	29,36	0,64	2,19	65,0	0,21	0,32	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	28,94	0,41	1,43	64,9	0,13	0,19	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 30

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyenne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	28,30	0,37	1,31	69,8	0,08	0,12	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	29,13	0,13	0,43	70,8	0,00	0,00	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %

Tableau 30 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P200 e8a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	28,16	0,26	0,92	68,1	0,11	0,16	100 %
NÉG	P210 e13a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	31,74	0,26	0,81	57,8	0,41	0,71	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	29,35	0,34	1,15	67,2	0,14	0,21	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a2	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	24,09	0,22	0,77	72,0	0,05	0,07	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	28,58	0,53	1,85	64,5	0,06	0,10	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	28,25	0,10	0,36	68,3	0,10	0,15	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	27,07	0,23	0,86	68,3	0,16	0,24	100 %

Tableau 30 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P210 e13a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	29,33	0,18	0,60	57,6	0,04	0,07	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	29,19	0,48	1,64	65,1	0,08	0,13	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a3	6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		6	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		6	25,97	0,27	1,04	65,4	0,05	0,08	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 31

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	29,38	0,47	1,81	69,2	0,19	0,27	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	30,13	0,31	1,03	70,1	0,62	0,89	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	28,89	0,39	1,36	67,7	0,37	0,55	100 %

Tableau 31 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P210 e13a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	32,23	0,37	1,16	56,9	0,63	1,10	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	29,52	0,58	1,98	66,1	0,29	0,43	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	30,44	0,53	1,74	71,5	0,44	0,62	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	29,90	0,38	1,27	64,0	0,06	0,10	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	29,57	0,43	1,44	67,8	0,39	0,58	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	28,22	0,33	1,18	68,0	0,15	0,22	100 %
NÉG	P210 e13a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	29,68	0,48	1,63	57,1	0,21	0,37	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %

Tableau 31 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P210 e14a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	29,27	0,65	2,22	65,0	0,20	0,31	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	28,53	0,55	1,92	65,0	0,15	0,23	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 32

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	28,29	0,43	1,51	69,8	0,07	0,11	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	29,19	0,17	0,59	70,8	0,08	0,11	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	27,86	0,47	1,69	68,2	0,12	0,18	100 %
NÉG	P210 e13a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	31,78	0,25	0,78	58,5	0,11	0,19	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %

Tableau 32 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P210 e14a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	29,36	0,35	1,20	67,1	0,07	0,10	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a2	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	27,85	0,31	1,11	72,0	0,08	0,11	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	28,56	0,48	1,68	64,5	0,06	0,09	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	28,56	0,37	1,30	68,3	0,07	0,11	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	26,78	0,36	1,34	68,3	0,14	0,21	100 %
NÉG	P210 e13a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	29,64	0,38	1,28	57,5	0,05	0,09	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	29,12	0,42	1,45	65,1	0,08	0,13	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	-	-	-	-	-	-	100 %

Tableau 32 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P230 e19a3	12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		12	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		12	25,85	0,26	1,02	65,4	0,06	0,10	100 %

Dans le test de répétabilité, le BCR-ABL Dx 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 simulés de PBL négatifs ou dopés avec un panel d'ARN synthétiques de BCR-ABL (GenScript) comme décrit dans le test précédent.

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 33

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	29,08	0,42	1,44	69,2	0,21	0,30	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	29,62	0,57	1,91	69,9	0,59	0,84	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	28,77	0,49	1,69	67,6	0,28	0,42	100 %
NÉG	P210 e13a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	31,99	0,49	1,52	56,7	0,44	0,78	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tableau 33 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P210 e14a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	29,25	0,50	1,72	66,1	0,70	1,06	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	29,67	0,76	2,55	71,4	0,36	0,51	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	29,24	0,59	2,00	63,9	0,11	0,17	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	29,21	0,48	1,63	67,7	0,26	0,39	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	28,20	0,50	1,79	67,8	0,20	0,29	100 %
NÉG	P210 e13a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	29,66	1,07	3,61	57,1	0,17	0,29	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	28,85	0,66	2,29	65,0	0,19	0,29	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tableau 33 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyenne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P230 e19a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	28,02	0,70	2,51	64,8	0,31	0,47	100 %

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

Tableau 34

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyenne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	27,85	0,53	1,91	69,7	0,09	0,13	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	28,73	0,41	1,42	70,8	0,07	0,10	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	27,58	0,49	1,77	68,2	0,12	0,18	100 %
NÉG	P210 e13a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	31,36	0,37	1,18	58,2	0,38	0,65	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	28,66	0,72	2,50	67,1	0,37	0,55	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tableau 34 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P230 e19a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	27,28	0,53	1,94	71,9	0,08	0,12	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	27,99	0,65	2,32	64,4	0,12	0,19	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	28,22	0,40	1,43	68,4	0,08	0,12	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	26,76	0,47	1,74	68,3	0,15	0,21	100 %
NÉG	P210 e13a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	29,10	0,63	2,18	57,6	0,10	0,17	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	28,24	1,07	3,80	65,2	0,13	0,19	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	25,67	0,57	2,21	65,3	0,28	0,42	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 35

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	29,19	0,39	1,35	69,3	0,22	0,32	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	29,56	0,47	1,58	70,1	0,49	0,70	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	28,71	0,44	1,55	67,7	0,15	0,23	100 %
NÉG	P210 e13a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	31,80	0,46	1,44	56,7	0,58	1,02	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	29,09	0,46	1,58	66,2	0,69	1,04	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	29,03	0,43	1,50	71,5	0,21	0,30	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	29,35	0,66	2,24	63,9	0,14	0,22	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tableau 35 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P195 e6a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	29,08	0,48	1,66	67,7	0,30	0,44	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	28,10	0,36	1,29	67,7	0,21	0,31	100 %
NÉG	P210 e13a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	26,69	1,05	3,54	57,1	0,20	0,36	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	28,36	1,25	4,42	64,9	0,23	0,35	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	27,65	0,60	2,18	64,8	0,31	0,48	100 %

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

Tableau 36

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
BCR-ABL a2 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	28,02	0,39	1,40	69,8	0,13	0,19	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tableau 36 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyen- ne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P195 e6a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	28,85	0,50	1,75	70,8	0,28	0,39	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P200 e8a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	27,67	0,44	1,59	68,3	0,16	0,24	100 %
NÉG	P210 e13a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	31,52	0,41	1,30	58,1	0,40	0,68	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	28,71	0,29	1,01	67,1	0,11	0,17	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a2	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	27,20	0,49	1,80	72,0	0,12	0,17	100 %
BCR-ABL a3 PCR Mix									
NÉG	P190 e1a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	28,24	0,28	0,98	64,4	0,16	0,24	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P195 e6a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	28,29	0,43	1,52	68,4	0,13	0,19	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %

Tableau 36 (continued)

Échantillon	Cible	N	Ct (moyen)	EC Ct	% CV Ct	Tm moyenne	EC Tm	% CV Tm	Concordance (%)
NÉG	P200 e8a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	26,79	0,50	1,86	68,3	0,25	0,36	100 %
NÉG	P210 e13a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	29,32	0,54	1,85	57,6	0,08	0,14	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P210 e14a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	28,78	0,54	1,88	65,2	0,18	0,28	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	-	-	-	-	-	-	100 %
NÉG	P230 e19a3	36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE A		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE B		36	-	-	-	-	-	-	100 %
GROUPE C		36	25,65	0,69	2,68	65,3	0,30	0,46	100 %

Dans le test de reproductibilité, le BCR-ABL Dx 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 PBL, certifiés négatifs ou présumés négatifs pour chaque cible.

Étant donné que les performances analytiques du ELITe BeGenius sont équivalentes à celles du ELITe InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la spécificité diagnostique du test obtenue en association avec le ELITe InGenius s'applique également au ELITe BeGenius.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 37

Échantillons de PBL négatifs	N	Positifs	Négatifs	Spécificité diagnostique (%)
p190	60	0	60	100 %
p195	60	0	60	100 %
p200	60	0	60	100 %

Tableau 37 (continued)

Échantillons de PBL négatifs	N	Positifs	Négatifs	Spécificité diagnostique (%)
p210	60	0	60	100 %
p230	60	0	60	100 %

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

La valeur seuil Ct de l'IC est définie à 31.

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 PBL, certifiés positifs pour chaque cible ou dopés avec des matériels de référence.

Étant donné que les performances analytiques du ELITe BeGenius sont équivalentes à celles du ELITe InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la sensibilité diagnostique du test obtenue en association avec le ELITe InGenius s'applique également au ELITe BeGenius.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 38

Échantillons de PBL positifs ou dopés		N	Positifs	Négatifs	Sensibilité diagnostique (%)
p190	Positifs pour e1a2	1	1	0	100 %
	Dopés pour e1a2	25	25	0	
	Dopés pour e1a3	25	25	0	
p195	Dopés pour e6a2	25	25	0	100 %
	Dopés pour e6a3	25	25	0	
p200	Positifs pour e8a2	1	1	0	98 %
	Dopés pour e8a2	25	25	0	
	Dopés pour e8a3	25	24	1	
p210	Positifs pour e13a2	2	2	0	100 %
	Dopés pour e13a2	25	25	0	
	Dopés pour e13a3	25	25	0	
	Positifs pour e14a2	3	3	0	
	Dopés pour e14a2	25	25	0	
	Dopés pour e14a3	25	25	0	
p230	Dopés pour e19a2	25	25	0	100 %
	Dopés pour e19a3	25	25	0	

Un échantillon dopé pour p200 e8a2 a généré un résultat négatif discordant.

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 « BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit », FTP G07ING.

12 BIBLIOGRAPHIE

N. C. P. Cross et al. (2023) Leukemia 37: 2150 - 2167

M. Baccarani et al. (2019) Leukemia 33: 1173 - 1183.

J. Gabert et al. (2003) Leukemia. 17: 2318 – 2357

J. J. M. van Dongen et al. (1999) Leukemia. 13: 1901 – 1928

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

13 LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser ce produit uniquement avec les échantillons cliniques suivants : échantillons de leucocytes du sang périphérique prélevé sur EDTA ou sur citrate de sodium.

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

Ne pas utiliser ce produit avec des échantillons de sang périphérique prélevé dans de l'héparine : l'héparine inhibe la réaction de transcription inverse et de PCR des acides nucléiques et génère des résultats non valides.

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

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

La méthode de PCR en temps réel utilisée dans ce produit présente une sensibilité analytique élevée qui la rend sensible à une contamination par les échantillons cliniques positifs, les contrôles positifs et les produits de PCR. Une contamination croisée peut générer des résultats faux positifs. Le format du produit est conçu pour limiter la contamination croisée. Toutefois, une contamination croisée ne peut être évitée qu'en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et en suivant le présent mode d'emploi.

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

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

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

Afin d'éviter des résultats incorrects, ce produit doit être manipulé par du personnel professionnel, qualifié et formé aux techniques de biologie moléculaire telles que l'extraction, la 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'ARN cible n'a pas été détecté dans l'ARN extrait de l'échantillon ; toutefois, il n'est pas possible d'exclure le fait que 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-expression de plusieurs isoformes, la sensibilité pour une cible peut être affectée par l'amplification d'une seconde cible (se reporter à la section << Caractéristiques de performance >>).

En cas de test positif avec plusieurs isoformes, vérifier la valeur Ct de chaque variant. La co-expression des isoformes de BCR-ABL supplémentaires doit uniquement être diagnostiquée lorsque leurs valeurs Ct sont comparables à celle de l'isoforme principale détectée à la valeur Ct la plus basse (voir N. P. C. Cross et al. 2023). Sinon, seule l'isoforme principale ayant la valeur Ct la plus basse doit être rapportée.

En cas d'expression de p210 e14a2 à un faible titre, une seconde Tm non spécifique a parfois été détectée, entraînant une double positivité p210 e13a2 et p210 e14a2.

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'ARN cible ciblée par les amorces et les sondes du produit peuvent affecter la détection de l'ARN cible.

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, les résultats obtenus avec ce produit doivent être interprétés en 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 39

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 utiliser le mélange réactionnel complet pendant plus de 2 sessions d'analyse consécutives (7 heures dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de Stockage] ou dans la Cooler Unit). Ne pas laisser le mélange réactionnel complet à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Ne pas exposer le RT EnzymeMix à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes. Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.

Tableau 39 (continued)

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.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 40

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 biologie 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.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 41

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet et de l'échantillon. Vérifier le volume du mélange réactionnel complet et de l'échantillon.
Erreur de préparation du mélange réactionnel complet.	Vérifier le volume des réactifs utilisés pendant la préparation du mélange réactionnel complet.
Dégradation du mélange réactionnel complet ou de ses composants.	Ne pas utiliser le mélange réactionnel complet pendant plus de 2 sessions consécutives (7 heures dans la « Inventory Area » [Zone de Stockage]). Ne pas laisser le mélange réactionnel complet à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Ne pas exposer le RT EnzymeMix à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes. Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification avec une dilution à 1:2 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). Répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon pré-traité dans une solution d'homogénéisation, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
Erreur de l'instrument.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 42

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 43

Erreur de calcul de la valeur Ct	
Causes possibles	Solutions
Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon ou échantillon montrant une anomalie du signal de fluorescence.	Si une amplification significative est observée dans la courbe de PCR, sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat comme positif. Si aucune amplification n'est observée dans la courbe de PCR, sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat comme négatif ou le laisser non valide. Si une valeur Ct est requise : - répéter l'amplification de l'échantillon élué avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). - répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon pré-traité dans une solution d'homogénéisation, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Tableau 44

Erreur 20081 (Il est possible qu'aucun liquide ne soit présent dans le tube de sonication/d'extraction).	
Causes possibles	Solutions
Présence de bulles ou viscosité élevée de l'échantillon.	- Vérifier l'échantillon dans le tube d'extraction pour les positions requises. En l'absence d'échantillon, charger l'échantillon dans un tube d'extraction pour la position requise. Si l'échantillon est présent, cliquer sur le bouton « OK » dans la boîte de dialogue pour procéder à l'extraction. - En cas d'expiration du délai sans aucune action, le cycle sera interrompu. Dans ce cas, si l'échantillon est présent et que la session d'analyse peut être redémarrée immédiatement après avoir été interrompue, l'échantillon peut être utilisé pour le nouveau cycle. Sinon, répéter l'extraction avec une nouvelle aliquote de l'échantillon pré-traité.

Tableau 45

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

15 LÉGENDE DES SYMBOLES



Numéro de référence.



Limite supérieure de température.



Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.



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



Identifiant unique de dispositif



Contenu suffisant pour << N >> tests.



Consulter le mode d'emploi.



Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

16 AVIS AUX UTILISATEURS

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

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

17 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

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

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

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

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

Appendix A BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit utilisé en association avec les plateformes Genius series®



ATTENTION

Ce document est une version simplifiée du mode d'emploi officiel. Ce document est uniquement disponible en anglais. Se reporter au document complet avant toute utilisation : www.elitech-group.com

Application

Le produit **BCR-ABL Dx 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 de l'ARNm, extrait d'échantillons cliniques, du réarrangement *BCR::ABL* (BCR-ABL), et la discrimination des principaux variants.

Le test est capable de détecter et d'identifier **p190 e1a2**, **p195 e6a2**, **p200 e8a2**, **p210 e13a2** et **e14a2** (typage par analyse de fusion), **p230 e19a2** dans la première réaction et **p190 e1a3**, **p195 e6a3**, **p200 e8a3**, **p210 e13a3** et **e14a3** (typage par analyse de fusion), **p230 e19a3** dans la deuxième réaction.

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 humains de leucocytes du sang périphérique (PBL).

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic de la leucémie positive pour *BCR::ABL* chez les patients suspectés de présenter une leucémie associée au réarrangement *BCR::ABL*.

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

Séquence amplifiée

BCR-ABL a2 PCR Mix			
Séquence	Gène	Fluorophore	Canal
Cible 1	p190 e1a2	FAM	p190a2
Cible 2	P210 e13a2 et e14a2	AP639	P210a2
Cible 3	P230 e19a2	AP690	P230a2
Cible 4	P200 e8a2	AP559	p200a2
Cible 5	p195 e6a2	AP593	p195a2
Contrôle Interne	ABL	AP525	ICa2
BCR-ABL a3 PCR Mix			
Séquence	Gène	Fluorophore	Canal
Cible 1	p190 e1a3	FAM	p190a3
Cible 2	p210 e13a3 et e14a3	AP639	P210a3
Cible 3	p230 e19a3	AP690	P230a3
Cible 4	P200 e8a3	AP559	p200a3
Cible 5	p195 e6a3	AP593	p195a3
Contrôle Interne	ABL	AP525	ICa3

Matrice validée

Sang périphérique prélevé sur EDTA ou citrate de sodium, prétraité pour isoler les leucocytes du sang périphérique (PBL).

Contenu du kit et produits associés

BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit (RTSG07ING)			BCR-ABL Dx - ELITe Positive Control (CTRG07ING)	
 x 2	 x 2	 x 2	 x 3	 x 3
BCR-ABL a2 PCR Mix 2 tubes de 600 µL 24 réactions par tube 48 réactions par kit 5 cycles de congélation/décongélation par tube	BCR-ABL a3 PCR Mix 2 tubes de 600 µL 24 réactions par tube 48 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	BCR-ABL a2 Positive Control 3 tubes de 160 µL 4 réactions par tube 12 réactions par kit 4 cycles de congélation/décongélation	BCR-ABL a3 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

› Instrument ELITe InGenius : INT030. › Instrument ELITe BeGenius : INT040. › ELITe InGenius SP RNA : INT034SPRNA. › ELITe InGenius DNase I: INT034DNASE. › ELITe InGenius DNase tube adapter kit : G6431-000. › Alternative Caps For Extraction Tubes : 925-CAP (en option)	› Cell Lysis Solution (Promega, code A7933 ou réactif équivalent). › RNA Lysis Buffer (Promega, code Z3051 ou réactif équivalent). › Thioglycerol (Promega, code A208B-C ou réactif équivalent). › Consommables pour ELITe InGenius et ELITe BeGenius (voir le mode d'emploi des instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius)
---	---

Protocole avec les ELITe InGenius et ELITe BeGenius

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

Performances avec les ELITE InGenius et ELITE BeGenius

Matrice	Cible		Limite de détection	Sensibilité	Spécificité
Sang périphérique prélevé sur EDTA ou sur citrate de sodium	p190	e1a2	8 copies/réaction	100 % (26/26)	100 % (60/60)
		e1a3	8 copies/réaction	100 % (25/25)	100 % (60/60)
	p195	e6a2	8 copies/réaction	100 % (25/25)	100 % (60/60)
		e6a3	20 copies/réaction	100 % (25/25)	100 % (60/60)
	p200	e8a2	50 copies/réaction	100 % (26/26)	100 % (60/60)
		e8a3	50 copies/réaction	98 % (24/25)	100 % (60/60)
	p210	e13a2	8 copies/réaction	100 % (27/27)	100 % (60/60)
		e13a3	8 copies/réaction	100 % (25/25)	100 % (60/60)
		e14a2	8 copies/réaction	100 % (28/28)	100 % (60/60)
		e14a3	20 copies/réaction	100 % (25/25)	100 % (60/60)
	p230	e19a2	20 copies/réaction	100 % (25/25)	100 % (60/60)
		e19a3	50 copies/réaction	100 % (25/25)	100 % (60/60)

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 du laboratoire, et prélevés, transportés et conservés dans les conditions suivantes.

Type d'échantillon	Conditions de transport/conservation
	+16/+26 °C (température ambiante)
Sang périphérique prélevé sur EDTA ou sur citrate de sodium	dans les 24 heures et au plus tard 48 heures
Remarque : conformément à la procédure décrite dans le mode d'emploi complet, les échantillons doivent être prétraités pour isoler les leucocytes du sang périphérique (PBL) avant utilisation.	

Procédures avec le ELITE InGenius

L'interface graphique du ELITE InGenius Software 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).

NOTE!

Avec le produit BCR-ABL Dx ELITE MGB Kit, deux réactions doivent être effectuées pour chaque échantillon : une avec le BCR-ABL a2 PCR Mix (pour les isoformes BCR-ABL a2) et l'autre avec le BCR-ABL a3 PCR Mix (pour les isoformes BCR-ABL a3).

Avant l'analyse

1. Mettre le ELITE InGenius en marche. Se connecter avec le nom d'utilisateur et le mot de passe. Sélectionner le mode « CLOSED » (Fermé).	2. Vérifier les contrôles : BCR-ABL a2 Positive Control/BCR-ABL a3 Positive Control et BCR-ABL a2 Negative Control/BCR-ABL a3 Negative Control dans le menu « Controls » (Contrôles). Remarque : tous les contrôles doivent avoir été analysés, approuvés et ne pas être expirés.	3. Décongeler les tubes de BCR-ABL a2 PCR Mix/BCR-ABL a3 PCR Mix. Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s.												
4. Préparer le mélange réactionnel complet. <table border="1"> <thead> <tr> <th>Nombre d'échantillons (N)</th><th>BCR-ABL a2 PCR Mix et BCR-ABL a3 PCR Mix</th><th>RT EnzymeMix</th></tr> </thead> <tbody> <tr> <td>$1 \leq N \leq 5$</td><td>$(N + 1) \times 20 \mu\text{L}$</td><td>$(N + 1) \times 0,3 \mu\text{L}$</td></tr> <tr> <td>$6 \leq N \leq 11$</td><td>$(N + 2) \times 20 \mu\text{L}$</td><td>$(N + 2) \times 0,3 \mu\text{L}$</td></tr> <tr> <td>$N = 12$</td><td>290 μL</td><td>4,4 μL</td></tr> </tbody> </table>			Nombre d'échantillons (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix et BCR-ABL a3 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
Nombre d'échantillons (N)	BCR-ABL a2 PCR Mix et BCR-ABL a3 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												
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.														

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 code-barres des échantillons à l'aide du lecteur de code-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon.
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100 et BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100	5. Pour le protocole de test a2 (a2 Assay Protocol), sélectionner la méthode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) et la position d'échantillon « Extraction Tube » (Tube d'extraction). Pour le protocole de test a3 (a3 Assay Protocol), sélectionner la méthode « PCR Only » (PCR seulement) et sélectionner, en tant que position d'échantillon, la position de l'échantillon.	6. Charger les mélanges réactionnels complets dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks).
7. Charger : la cassette de PCR, la cartouche d'extraction ELITE InGenius SP RNA, les tubes DNase I, le Elution Tube (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 code-barres des échantillons à l'aide du lecteur de code-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon.
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : BCR-ABL a2 ELITe_PBL_200_100 et BCR-ABL a3 ELITe_PBL_200_100 or BCR-ABL a2 ELITe_PC or BCR-ABL a3 ELITe_PC ou BCR-ABL a2 ELITe_NC or BCR-ABL a3 ELITe_NC	5. Sélectionner la méthode « PCR Only » (PCR seulement). Pour les contrôles et le protocole de test a2 (a2 Assay Protocol), sélectionner la position d'échantillon « Elution Tube » (Tube d'élution). Pour le protocole de test a3 (a3 Assay Protocol), sélectionner la position de l'éluat comme position d'échantillon.	6. Charger les mélanges réactionnels complets 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 avec le ELITe BeGenius

L'interface graphique du ELITe BeGenius Software 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 : « Extract + PCR » (Extraction + PCR) ou « PCR Only » (PCR seulement).

NOTE!

Avec le produit BCR-ABL Dx ELITe MGB Kit, deux réactions doivent être effectuées pour chaque échantillon : une avec le BCR-ABL a2 PCR Mix (pour les isoformes BCR-ABL a2) et l'autre avec le BCR-ABL a3 PCR Mix (pour les isoformes BCR-ABL a3).

Avant l'analyse

1. Mettre le ELITe BeGenius en marche. Se connecter avec le nom d'utilisateur et le mot de passe. Sélectionner le mode « CLOSED » (Fermé).	2. Vérifier les contrôles : BCR-ABL a2 Positive Control/BCR-ABL a3 Positive Control et BCR-ABL a2 Negative Control/BCR-ABL a3 Negative Control dans le menu « Controls » (Contrôles). Remarque : tous les contrôles doivent avoir été analysés, approuvés et ne pas être expirés.	3. Décongeler les tubes de BCR-ABL a2 PCR Mix/BCR-ABL a3 PCR Mix . Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s.
--	---	--

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)	BCR-ABL a2 PCR Mix et BCR-ABL a3 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)

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile puis cliquer sur le mode d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	2. Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) avec les échantillons dans la Cooler Unit. Scanner les code-barres des échantillons ou saisir l'ID de l'échantillon.	3. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 μL », Éluat : « 100 μL »
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100 et BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100	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.	6. Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluat) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.
7. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) et le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITE InGenius SP RNA », les tubes « ELITE InGenius DNase I » et les consommables d'extraction requis.	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle.	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats.

NOTE!

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile, puis cliquer sur le mode d'analyse « PCR Only » (PCR seulement).	2. Charger les tubes à code-barres contenant les acides nucléiques extraits ou les contrôles dans le « Elution Rack » (Rack d'éluat), puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	3. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 μL », Éluat : « 100 μL ».
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : BCR-ABL a2 ELITE_PBL_200_100 et BCR-ABL a3 ELITE_PBL_200_100 ou BCR-ABL a2 ELITE_PC ou BCR-ABL a3 ELITE_PC ou BCR-ABL a2 ELITE_NC ou BCR-ABL a3 ELITE_NC	5. Charger le mélange réactionnel complet dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'éluat) puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	6. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR).
7. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle.	8. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats.	



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