

NOTICE of CHANGE dated 16/02/2023

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«HEV ELITe MGB® Kit» Ref. RTS130ING

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

- *Troubleshooting section: added the possibility of discriminating possible mutants by the presence of a defined peak of the Melting Temperature with a value different from that of the Positive Control*
- *New data of Inclusivity*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

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



HEV ELITe MGB® Kit

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

REF RTS130ING

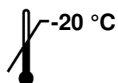


TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	page 1
PRINCIPES DU TEST	page 2
DESCRIPTION DU PRODUIT	page 3
MATÉRIEL FOURNI	page 3
MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	page 3
AUTRES PRODUITS REQUIS	page 3
AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	page 4
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	page 5
PROCÉDURE	page 7
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	page 14
BIBLIOGRAPHIE	page 19
LIMITES DE LA PROCÉDURE	page 20
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	page 21
LÉGENDE DES SYMBOLES	page 23
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	page 24

APPLICATION

Le produit « **HEV ELITe MGB® Kit** » fait partie d'un test quantitatif de transcription inverse et d'amplification des acides nucléiques pour la **détection et la quantification de l'ARN** du virus de l'hépatite E (**VHE**) dans des échantillons d'ARN extraits d'échantillons cliniques.

Le test est capable de détecter l'ARN du VHE appartenant aux génotypes 1, 2, 3, 3a et 4.

Le test doit être effectué en association avec le système **ELITe InGenius®** en utilisant du plasma prélevé sur EDTA et un surnageant de selles.

Le produit est destiné à être utilisé dans le diagnostic de l'hépatite provoquée par le VHE, en association avec les données cliniques du patient et d'autres résultats d'analyse de laboratoire.

HEV ELITe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTS130ING

PRINCIPES DU TEST

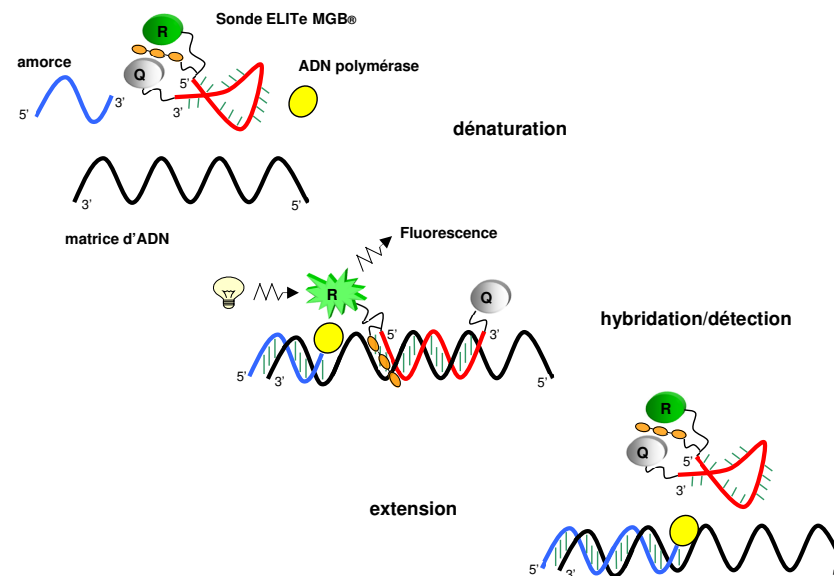
Le test consiste en réaction de transcription inverse et d'amplification en temps réel (méthode en une seule étape).

À partir de l'ARN extrait de l'échantillon à tester, une réaction de transcription inverse et d'amplification spécifique à la région de l'ORF-2 du VHE et à la région de l'ARN génomique du phage MS2 (contrôle interne exogène d'extraction et d'inhibition) est effectuée dans la cassette de PCR.

La sonde spécifique au VHE dotée de la technologie **ELITe MGB®**, marquée par le fluorophore FAM, est activée lorsqu'elle s'hybride avec le produit spécifique de la réaction d'amplification du VHE. La sonde spécifique au contrôle interne dotée de la technologie **ELITe MGB®**, marquée par le fluorophore AP525, est activée lorsqu'elle s'hybride avec le produit spécifique de la réaction d'amplification du contrôle interne. Lorsque le produit spécifique de la réaction d'amplification augmente, l'émission de fluorescence augmente également et est mesurée et enregistrée par l'instrument. Le traitement des données détermine la présence et le titre de l'ARN du VHE dans l'échantillon.

Le test a été validé en association avec l'instrument **ELITe InGenius**, un système intégré et automatisé d'extraction, d'amplification, de détection des acides nucléiques, et d'interprétation des résultats.

L'image suivante présente de manière synthétique le mécanisme d'activation et l'émission de la fluorescence de la sonde dotée de la technologie **ELITe MGB®**. Noter que la sonde n'est pas hydrolysée pendant le cycle d'amplification si bien qu'elle peut être utilisée pour l'analyse de la courbe de dissociation et le calcul de la température de fusion.



DESCRIPTION DU PRODUIT

Le produit « **HEV ELiTe MGB® Kit** » fournit les composants suivants :

• HEV PCR Mix

Un mélange optimisé et stabilisé d'oligonucléotides et de réactifs pour la transcription inverse et l'amplification en temps réel, **pré-aliquoté dans quatre tubes à essai** (capuchon BLANC, sans insert). Chaque tube contient **600 µl** de solution, un volume suffisant pour effectuer **24 tests** (traitement d'au moins 5 échantillons par session) en association avec le système **ELiTe InGenius**.

Les amorces et la sonde pour le VHE (stabilisées par le groupe MGB®, marquées par le fluorophore FAM et désactivées par une molécule non fluorescente) sont spécifiques à la région de l'ORF-2 du VHE. Le signal du VHE est détecté par le Canal 1 du système **ELiTe InGenius**.

Les amorces et la sonde pour le contrôle interne (stabilisées par le groupe MGB®, marquées par le fluorophore AP525 et désactivées par une molécule non fluorescente) sont spécifiques à une région de l'ARN génomique du **phage MS2**. Le signal du contrôle interne (IC) est détecté par le Canal 2 du système **ELiTe InGenius**.

Le mélange réactionnel fournit également le tampon, du chlorure de magnésium, les nucléotides triphosphates, le fluorophore AP593, qui peut être utilisé comme une référence passive pour la normalisation de la fluorescence, et l'enzyme ADN polymérase « hot start » (démarrage à chaud).

• RT EnzymeMix

Un mélange optimisé et stabilisé d'enzymes pour la transcription inverse, **pré-aliquoté dans deux tubes à essai** (capuchon avec un insert NOIR). Chaque tube contient **20 µl** de solution, un volume suffisant pour effectuer **48 tests** en association avec le système **ELiTe InGenius**.

Le mélange fournit l'enzyme pour la transcription inverse.

Le produit permet d'effectuer **96 tests en association avec le système « ELiTe InGenius »**, en incluant les contrôles.

MATÉRIEL FOURNI

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
HEV PCR Mix	Mélange de réactifs pour la transcription inverse et l'amplification en temps réel Capuchon BLANC	4 x 600 µl	-
RT EnzymeMix	Transcriptase inverse Capuchon avec un insert NOIR	2 x 20 µl	-

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.
- Agitateur de type vortex.
- Microcentrifugeuse de paillasse (12 000 - 14 000 tr/min).
- Micropipettes et cônes stériles avec filtre pour les aérosols ou à déplacement positif (2-20 µl, 5-50 µl, 50-200 µl, 200-1 000 µl).
- Tube Sarstedt de 2,0 ml à capuchon vissant, à collerette (Sarstedt Réf. 72.694.005).
- Eau de qualité biologie moléculaire.

AUTRES PRODUITS REQUIS

Les réactifs pour l'extraction de l'ARN des échantillons à analyser, la matrice du contrôle interne, le contrôle positif d'amplification, les étalons d'ADN en quantité connue et les consommables ne sont **pas** inclus dans ce produit.

Pour l'extraction automatique des acides nucléiques, l'amplification en temps réel et l'interprétation des résultats des échantillons à analyser, il est nécessaire d'utiliser l'instrument « **ELiTe InGenius** » (ELITechGroup S.p.A., réf. INT030) et les protocoles de test spécifiques suivants (ELITechGroup S.p.A.) :

- paramètres pour l'amplification des calibrateurs « **HEV ELiTe STD** »,
- paramètres pour l'amplification du contrôle positif « **HEV ELiTe PC** »,
- paramètres pour l'amplification du contrôle négatif « **HEV ELiTe NC** »,
- paramètres pour les échantillons de plasma à analyser « **HEV ELiTe PL_200_100** »,
- paramètres pour les échantillons de selles à analyser « **HEV ELiTe ST_200_100** ».

Les produits génériques suivants sont requis avec l'instrument « **ELiTe InGenius** » :

- cartouches d'extraction « **ELiTe InGenius® SP 200** » (ELITechGroup S.p.A., réf. INT032SP200),
- consommables pour l'extraction « **ELiTe InGenius® SP 200 Consumable Set** » (ELITechGroup S.p.A., réf. INT032CS),
- cartouches d'amplification « **ELiTe InGenius® PCR Cassette** » (ELITechGroup S.p.A., réf. INT035PCR),
- cônes « **300 µL Filter Tips Axygen** » (Axygen BioScience Inc., CA, États-Unis, réf. TF-350-L-R-S),
- conteneurs « **ELiTe InGenius® Waste Box** » (ELITechGroup S.p.A., réf. F2102-000).

À titre de matrice de contrôle interne d'extraction et d'inhibition, il est nécessaire d'utiliser le produit générique « **CPE - Internal Control** » (ELITechGroup S.p.A., réf. CTRCPE). Il s'agit d'une solution stabilisée contenant deux ADN plasmidiques et l'ARN génomique du phage MS2.

Si la détection de l'ARN du VHE est requise pour une analyse qualitative, utiliser le produit spécifique « **HEV - ELiTe Positive Control** » (ELITechGroup S.p.A., réf. CTR130ING). Le produit fournit une solution stabilisée d'ADN plasmidique.

Si la détection et la quantification de l'ARN du VHE est requise pour une analyse quantitative, utiliser le produit spécifique « **HEV ELiTe Standard** » (ELITechGroup S.p.A., réf. STD130ING). Le produit fournit quatre dilutions stabilisées d'ADN plasmidique à une concentration connue pour obtenir la courbe d'étalonnage.

Un facteur de conversion permet d'exprimer les résultats de l'analyse quantitative en unités internationales de VHE selon le « 1^{er} étalon international de l'OMS pour les techniques d'amplification des acides nucléiques (TAN) du virus de l'hépatite E » (PEI, Allemagne, code 6329/10).

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

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

Avertissements et précautions d'ordre général

Manipuler et mettre au rebut tous les échantillons biologiques comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Éviter tout contact direct avec les échantillons biologiques. Éviter de provoquer des éclaboussures ou des pulvérisations. Le matériel qui a été en contact avec les échantillons biologiques doit être traité pendant au moins 30 minutes avec de l'hypochlorite de sodium à 3 % ou autoclavé pendant une (1) heure à 121 °C avant d'être mis au rebut.

Manipuler et mettre au rebut tous les réactifs et l'ensemble du matériel qui ont été utilisés pour réaliser le test comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents 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.

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, ni boire, ni fumer, ni 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 fournies avec le produit avant d'exécuter le test.
Lors de l'exécution du test, suivre les instructions fournies avec le produit.
Ne pas utiliser le produit au-delà de la date de péremption indiquée.
Utiliser uniquement les réactifs fournis avec le produit et ceux recommandés par le fabricant.
Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.
Ne pas utiliser de réactifs commercialisés par d'autres fabricants.

Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

Les procédures de biologie moléculaire exigent du personnel qualifié et dûment formé pour éviter tout risque de résultats erronés, en particulier ceux dus à la dégradation des acides nucléiques contenus dans les échantillons ou à la contamination des échantillons par les produits 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 réactifs nécessaires à la transcription inverse et à l'amplification doivent être préparés de manière à pouvoir être utilisés au cours d'une seule session. 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 cassettes de PCR doivent être manipulées de sorte à éviter la diffusion des produits d'amplification dans l'environnement, et toute contamination des échantillons et des réactifs.

Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

HEV PCR Mix

Le mélange **HEV PCR Mix** doit être conservé à -20 °C dans l'obscurité.

Le mélange **HEV PCR Mix** peut être congelé et décongelé **cinq fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

RT EnzymeMix

Le produit **RT EnzymeMix** doit être conservé à -20 °C.

Le produit **RT EnzymeMix** ne doit pas être exposé à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes. Il peut être congelé et décongelé **dix fois** au maximum.

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Ce produit doit être utilisé avec les échantillons cliniques suivants :

Plasma prélevé sur EDTA

Les échantillons de plasma destinés à l'extraction de l'ARN doivent être prélevés dans de l'EDTA, puis transportés et conservés à température ambiante (+18/+30 °C) pendant vingt-quatre heures au maximum, ou à +2/+8 °C pendant cinq jours au maximum. Sinon, ils doivent être congelés et conservés à -20 °C pendant trente jours au maximum ou à -70 °C pour des périodes plus longues.

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

Remarque : lorsque l'extraction de l'ARN à partir de plasma prélevé sur EDTA est effectuée à l'aide du système **ELITE InGenius** et du logiciel **ELITE InGenius** version 1.3 (ou versions ultérieures équivalentes), utiliser le protocole de test **HEV ELITE_PL_200_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µl d'échantillon, l'ajout du **CPE** (contrôle interne) à 10 µl/extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 100 µl.

Les acides nucléiques purifiés peuvent être conservés à +2/+8 °C pendant 16 heures ou à -20 °C pendant un mois.

Lorsque le tube primaire est utilisé, le volume de l'échantillon varie en fonction du type de tube chargé ; se reporter au mode d'emploi du kit d'extraction pour obtenir de plus amples informations sur le paramétrage et l'exécution de la procédure d'extraction.

Selles

Les échantillons de selles destinés à l'extraction de l'ARN doivent être prélevés et identifiés conformément aux directives du laboratoire, puis transportés et conservés à +2/+8 °C pendant vingt-quatre heures au maximum. Sinon, ils doivent être congelés et conservés à -20 °C pendant trente jours au maximum ou à -70 °C pour des périodes plus longues.

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

Le pré-traitement suivant est recommandé avant l'extraction :

- transférer environ 3 ml de selles dans le tube conique de 50 ml (ce qui revient à remplir le fond conique du tube),
- ajouter 5 ml d'eau de qualité biologique moléculaire,
- agiter au vortex jusqu'à ce que l'échantillon soit homogène,
- transférer 100 µl d'échantillon de selles traité à l'eau à 900 µl d'eau de qualité biologie moléculaire dans le tube de 1,5 ml,
- agiter au vortex jusqu'à ce que l'échantillon soit homogène,
- centrifuger à 13 000 tr/min pendant 1 minute,
- avec précaution, transférer 200 µl du surnageant de selles dans un « tube de sonication » fourni avec le produit « **ELITE InGenius SP 200 Consumable Set** », en veillant à ne pas perturber le culot de matière fécale.

Remarque : lorsque l'extraction de l'ARN à partir d'échantillons de selles humaines est effectuée à l'aide du système **ELITE InGenius** et du **ELITE InGenius® Software** version 1.3 (ou versions ultérieures équivalentes), utiliser le protocole de test **HEV ELITE_ST_200_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µl d'échantillon, l'ajout du **CPE** (contrôle interne) à 10 µl/extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 100 µl.

Les acides nucléiques purifiés peuvent être conservés à +2/+8 °C pendant 16 heures ou à -20 °C pendant un mois.

Substances interférentes

Des quantités d'ADN et/ou d'ARN génomique humain supérieures à 1 µg extraites de l'échantillon risqueraient d'inhiber la réaction de transcription inverse et l'amplification en temps réel.

Les données disponibles en ce qui concerne l'inhibition provoquée par les médicaments et d'autres substances sont indiquées au paragraphe « Substances interférentes » de la section « Caractéristiques de performance ».

Calibrateurs et contrôles d'amplification

Avant d'analyser un échantillon, il est absolument indispensable de générer et d'approuver la courbe d'étalonnage et les contrôles d'amplification pour chaque lot de réactifs d'amplification :

- à titre de jeu de calibrateurs, utiliser les quatre niveaux de concentration de l'étalon **HEV ELITE Standard** (non inclus dans ce kit), en association avec le protocole **HEV ELITE_STD**,
- à titre de contrôle positif d'amplification, utiliser le produit **HEV - ELITE Positive Control** (non inclus dans ce kit), en association avec le protocole **HEV ELITE_PC**,
- à titre de contrôle négatif d'amplification, utiliser de l'eau de qualité biologique moléculaire (non incluse dans ce kit), en association avec le protocole **HEV ELITE_NC**.

Remarque : le système **ELITE InGenius** exige que les résultats de la courbe d'étalonnage et des contrôles d'amplification soient approuvés et valides pour chaque lot de réactifs d'amplification stocké dans sa base de données.

Les courbes d'étalonnage, approuvées et stockées dans la base de données, expirent **au bout de 60 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser le jeu d'étalons Q-PCR Standards en association avec le lot de réactifs d'amplification.

Les résultats des contrôles d'amplification, approuvés et stockés dans la base de données, expirent **au bout de 15 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser les contrôles positif et négatif en association avec le lot de réactifs d'amplification.

En outre, les calibrateurs et les contrôles d'amplification doivent être réanalysés lorsque :

HEV ELiTe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTS130ING

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

Contrôles de qualité

Il est recommandé de planifier la validation de la procédure d'extraction et d'amplification. À cette fin, il est possible d'utiliser les échantillons testés ou un matériel de référence certifié. Les contrôles externes doivent être utilisés conformément aux exigences des organismes d'accréditation locaux, régionaux et nationaux en vigueur.

PROCÉDURE

La procédure d'utilisation du « **HEV ELiTe MGB® Kit** » avec le système **ELiTe InGenius** comporte trois étapes :

- Vérification de la préparation du système,
- Paramétrage de la session,
- Examen et exportation des résultats.

Vérification de la préparation du système

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

- mettre le système **ELiTe InGenius** en marche et sélectionner le mode de connexion « **FERMÉ** » (CLOSED) ;
- vérifier que les calibrateurs (**HEV Q-PCR Standard**) ont été analysés, sont approuvés et ne présentent pas le statut (Status) Expiré en association avec le lot de réactifs d'amplification à utiliser. En l'absence de calibrateurs approuvés ou valides, il convient de les analyser comme décrit aux paragraphes suivants ;
- vérifier que les contrôles d'amplification (Contrôles, **HEV Positive Control**, **HEV Negative Control**) ont été analysés, sont approuvés et ne présentent pas le statut (Status) Expiré en association avec le lot de réactifs d'amplification à utiliser. En l'absence de contrôles d'amplification approuvés ou valides, il convient de les analyser comme décrit aux paragraphes suivants ;
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique utilisateur (GUI) concernant le paramétrage de la session analytique et en utilisant les protocoles de test fournis par ELiTechGroup S.p.A. Ces protocoles de DIV ont été spécifiquement validés avec les kits **ELiTe MGB®**, l'instrument **ELiTe InGenius** et la matrice indiquée.

Les protocoles de test disponibles pour tester des échantillons à l'aide du produit **HEV ELiTe MGB®** Kit sont décrits dans le tableau ci-dessous.

Protocole de test pour le HEV ELiTe MGB® Kit			
Nom	Matrice	Rapport	Caractéristiques
HEV ELiTe_PL_200_100	Plasma	Positif/ copies/ml/ IU/ml/Négatif	Volume d'extraction initial : 200 µl Volume d'élution extrait : 100 µl Contrôle interne : 10 µl Sonication : NON Volume de PCR Mix : 20 µl Volume initial de PCR de l'échantillon : 10 µl
HEV ELiTe_ST_200_100	Surnageant de selles	Positif/ copies/ml/ Négatif	Volume d'extraction initial : 200 µl Volume d'élution extrait : 100 µl Contrôle interne : 10 µl Sonication : NON Volume de PCR Mix : 20 µl Volume initial de PCR de l'échantillon : 10 µl

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

Paramétrage de la session

Le produit **HEV ELiTe MGB® Kit** peut être utilisé avec le système **ELiTe InGenius** pour les opérations suivantes :

HEV ELiTe MGB® Kit
réactifs pour la transcription inverse de l'ARN
et l'amplification en temps réel de l'ADNc

REF RTS130ING

- A. Analyse intégrée (Extraction + PCR),
- B. Analyse d'amplification (PCR uniquement),
- C. Analyse d'étalonnage (PCR uniquement),
- D. Analyse d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif (PCR uniquement).

Tous les paramètres nécessaires pour la session sont inclus dans le protocole de test disponible sur l'instrument et sont automatiquement rappelés lorsque le protocole de test est sélectionné.

Remarque : le système **ELiTe InGenius** peut être connecté au « serveur d'informations de localisation » (LIS) par lequel il est possible d'envoyer les informations relatives à la session de travail. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Avant de commencer la session, il est absolument indispensable de procéder comme suit :

1. Si nécessaire, décongeler les tubes à essai contenant les échantillons à analyser à température ambiante (+18/25 °C). Agiter au vortex pendant 10 secondes, centrifuger les tubes pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver les tubes sur de la glace.
2. Décongeler les tubes à essai du mélange **HEV PCR Mix** (capuchon BLANC) nécessaires à la session d'analyse pendant 30 minutes à température ambiante (+18/25 °C), en se rappelant que le contenu de chaque tube à essai est suffisant pour effectuer **24 tests**. Agiter au vortex pendant 10 secondes à trois reprises, centrifuger les tubes pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver les tubes sur de la glace.
3. Sortir les tubes de **RT EnzymeMix** (capuchon avec un insert NOIR) nécessaires pour la session d'analyse, en se rappelant que le contenu de chaque tube est suffisant pour effectuer **48 tests**. Agiter délicatement les tubes, centrifuger pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver les tubes sur de la glace.

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

4. Préparer un tube à capuchon vissant de 2 ml (Sarstedt réf. 72.694.005, non inclus dans le kit) pour le **mélange réactionnel complet** et le marquer de manière reconnaissable avec un marqueur permanent.
5. Calculer les volumes des deux composants inclus dans le kit qui sont nécessaires à la préparation du **mélange réactionnel complet** sur la base du nombre d'échantillons à analyser, comme décrit dans le tableau suivant.

Remarque : pour calculer les volumes des deux composants à utiliser pour la préparation du **mélange réactionnel complet**, il est nécessaire de définir le nombre d'échantillons (N) à tester au cours de la session d'analyse et de suivre le tableau ci-dessous.

Nombre d'échantillons (N)	HEV PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N + 1) x 20 µl	(N + 1) x 0,3 µl
6 ≤ N ≤ 12	(N + 2) x 20 µl	(N + 2) x 0,3 µl

6. Préparer le **mélange réactionnel complet** en ajoutant les volumes calculés des deux composants au tube de 2 ml dédié.
7. Agiter **au vortex à basse vitesse** à trois reprises pendant 10 secondes, centrifuger pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond puis conserver le tube sur de la glace.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** doit être utilisé dans les **7 heures** s'il est conservé dans le bloc réfrigéré. Le mélange réactionnel complet **ne peut pas** être conservé.

Les principales étapes du paramétrage des quatre types d'analyse sont décrites ci-dessous.

A. Analyse intégrée

Pour paramétrer une analyse intégrée avec une extraction et une amplification d'échantillon, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler les tubes de CPE pour la session. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions. Mélanger délicatement, centrifuger les tubes pendant 5 secondes pour amener le contenu au fond et conserver les tubes sur de la glace.
2. Sélectionner « Exécuter l'analyse » (Perform Run) dans l'écran « Accueil » (Home).
3. Vérifier que le « Volume d'extraction initial » (Extraction Input Volume) est de 200 µl et que le « Volume d'élution extrait » (Extracted Elute Volume) est de 100 µl.

4. Pour chaque « Position » (Track) d'intérêt, renseigner l'« ID échantillon » (SampleID - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
5. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Test » (Assay) (par ex. HEV ELITe_PL_200_100).
6. Vérifier que le « Protocole » (Protocol) affiché est : « Extraction + PCR » (Extract + PCR).
7. Sélectionner la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Position de l'échantillon » (Sample Position) :
 - si un tube primaire est utilisé, sélectionner « Tube primaire » (Primary Tube) ;
 - si un tube secondaire est utilisé, sélectionner « Tube de sonication » (Sonication Tube).
 Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
8. Charger le **mélange réactionnel complet** et le CPE sur le « Bloc inventaire » (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Zone inventaire » (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger les « Cassettes de PCR » (PCR Cassettes), les cartouches d'extraction « ELITe InGenius SP 200 », tous les consommables requis et les échantillons à extraire aux positions spécifiées à l'étape 8 en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
11. Fermer le tiroir de l'instrument.
12. Appuyer sur « Démarrer » (Start) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITe InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : au terme de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le « Tube d'élution » (Elution tube) doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 °C pendant un mois. Éviter tout déversement de l'échantillon extrait.

Remarque : au terme de l'analyse, les PCR Cassettes contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et mis au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail.

B. Analyse d'amplification

Pour paramétrer l'analyse d'amplification à partir d'ARN extrait, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Sélectionner « Exécuter l'analyse » (Perform Run) dans l'écran « Accueil » (Home).
2. Même si aucune extraction ne sera effectuée, vérifier que le « Volume d'extraction initial » (Extraction Input Volume) est de 200 µl et que le « Volume d'élution extrait » (Extracted Elute Volume) est de 100 µl.
3. Pour chaque « Position » (Track) d'intérêt, renseigner le SID en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
4. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Test » (Assay) (par ex. HEV ELITe_PL_200_100).
5. Sélectionner « PCR uniquement » (PCR Only) dans la colonne « Protocole » (Protocol).
6. Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Position de l'échantillon » (Sample Position) est « Tube d'élution (ligne inférieure) » [Elution Tube (bottom row)]. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
7. Charger le **mélange réactionnel complet** sur le « Bloc inventaire » (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.

8. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Zone inventaire » (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger les « Cassettes PCR » (PCR Cassettes) et les échantillons d'acide nucléique extraits en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
10. Fermer le tiroir de l'instrument.
11. Appuyer sur « Démarrer » (Start) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITe InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : au terme de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le « Tube d'élution » (Elution tube) doit être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C pendant un mois. Éviter tout déversement de l'échantillon extrait.

Remarque : au terme de l'analyse, les PCR Cassettes contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et mis au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail.

C. Analyse d'étalonnage

Pour paramétrer l'analyse d'étalonnage, effectuer les étapes suivantes en suivant les instructions de la GUI :

1. Décongeler les tubes **HEV Q-PCR Standard** (Cal1 : HEV Q-PCR Standards 10², Cal2 : HEV Q-PCR Standards 10³, Cal3 : HEV Q-PCR Standards 10⁴, Cal4 : HEV Q-PCR Standards 10⁵). Chaque tube permet de préparer 4 réactions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
2. Sélectionner « Exécuter l'analyse » (Perform Run) dans l'écran « Accueil » (Home).
3. Même si aucune extraction ne sera réalisée, vérifier que le « Volume d'extraction initial » (Extraction Input Volume) est de 200 µl et que le « Volume d'élution extrait » (Extracted Elute Volume) est de 100 µl.
4. Sélectionner le protocole de test « HEV ELITe_STD » dans la colonne « Test » (Assay) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HEV Q-PCR Standard**.
5. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
6. Charger le **mélange réactionnel complet** sur le « Bloc inventaire » (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
7. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Zone inventaire » (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
8. Charger les « Cassettes de PCR » (PCR Cassettes) et les tubes **HEV Q-PCR Standard** en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
9. Fermer le tiroir de l'instrument.
10. Appuyer sur « Démarrer » (Start) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITe InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : au terme de l'analyse, les **HEV Q-PCR Standards** restants doivent être retirés de l'instrument, bouchés et conservés à -20 °C.

Remarque : au terme de l'analyse, les PCR Cassettes contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et mis au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail.

D. Analyse d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif

Pour paramétrer une analyse d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif, effectuer les étapes suivantes en suivant les instructions de la GUI :

1. Décongeler les tubes de **HEV Positive Control** pour la session. Chaque tube permet de préparer 4 réactions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
2. Transférer au minimum 50 µl d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Tube d'élution » (Elution tube) inclus dans le « ELITe InGenius SP 200 Consumable Set ».
3. Sélectionner « Exécuter l'analyse » (Perform Run) dans l'écran « Accueil » (Home).
4. Dans la « Position » (Track) d'intérêt, sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Test » (Assay).
5. Même si aucune extraction ne sera réalisée, vérifier que le « Volume d'extraction initial » (Extraction Input Volume) est de 200 µl et que le « Volume d'élution extrait » (Extracted Elute Volume) est de 100 µl.
6. Pour le contrôle positif, sélectionner le protocole de test « HEV ELITe_PC » dans la colonne « Test » (Assay) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **HEV Positive Control**.
7. Pour le contrôle négatif, sélectionner le protocole de test « HEV ELITe_NC » et renseigner le numéro de lot et la date de péremption de l'eau de qualité biologie moléculaire.
8. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger le **mélange réactionnel complet** sur le « Bloc inventaire » (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Zone inventaire » (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
11. Charger les « Cassettes PCR » (PCR Cassettes), le tube **HEV Positive Control** et le tube de contrôle négatif en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
12. Fermer le tiroir de l'instrument.
13. Appuyer sur « Démarrer » (Start) pour lancer l'analyse.

Au terme du processus, le système **ELITe InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : au terme de l'analyse, le **HEV Positive Control** restant doit être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C. Le contrôle négatif restant doit être mis au rebut.

Remarque : au terme de l'analyse, les PCR Cassettes contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et mis au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le **mélange réactionnel complet** peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 2 sessions de travail de 3 heures chacune, et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session de travail.

Examen et exportation des résultats

Au terme de l'analyse, l'écran « Affichage des résultats » (Results Display) s'affiche automatiquement. Dans cet écran, les résultats de l'échantillon/des contrôles et les informations concernant l'analyse sont affichés. À partir de cet écran, il est possible d'approuver le résultat, d'imprimer ou d'enregistrer les rapports (« Rapport échantillons » (Sample Report) ou « Rapport des positions » (Track Report)). Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Remarque : le système **ELITe InGenius** peut être connecté au « Serveur de gestion des informations de laboratoire » (LIS) qui permet d'envoyer les résultats de la session de travail au centre de données du laboratoire. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Le système **ELITe InGenius** génère les résultats à l'aide du produit **HEV ELITe MGB® Kit** en exécutant la procédure suivante :

- A. Validation de la courbe d'étalonnage,
- B. Validation des résultats du contrôle positif et du contrôle négatif,
- C. Validation des résultats de l'échantillon,
- D. Rapport des résultats de l'échantillon.

A. Validation de la courbe d'étalonnage

Les signaux de fluorescence émis par la sonde pour le VHE (Canal 1 « HEV ») dans les réactions d'amplification du calibrateur sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans le protocole de test « HEV ELITe_STD ».

La courbe d'étalonnage, spécifique au lot de réactifs d'amplification, est stockée dans la base de données (Étalonnage [Calibration]). Elle peut être visualisée et approuvée par du personnel qualifié disposant des privilèges « Administrateur » (Administrator) ou « Analyste » (Analyst), en suivant les instructions de la GUI.

La courbe d'étalonnage, spécifique au lot de réactifs d'amplification, expire **au bout de 60 jours**.

Remarque : si la courbe d'étalonnage ne satisfait pas les critères d'acceptation, le message « Échec » (Failed) s'affiche dans l'écran « Étalonnage » (Calibration) et elle ne peut pas être approuvée. Les réactions d'amplification des calibrateurs doivent être répétées.

Remarque : si la courbe d'étalonnage est analysée avec des échantillons et que son résultat est non valide, l'intégralité de la session est non valide. Dans ce cas, l'amplification de tous les échantillons doit être également répétée.

B. Validation des résultats du contrôle positif et du contrôle négatif

Les signaux de fluorescence émis par la sonde pour le VHE (Canal 1 « HEV ») dans la réaction d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans les protocoles de test « HEV ELITe_PC » et « HEV ELITe_NC ».

Les résultats du contrôle positif et du contrôle négatif d'amplification, spécifiques au lot de réactifs d'amplification utilisés, sont enregistrés dans la base de données (Contrôles [Controls]). Ils peuvent être visualisés et approuvés par du personnel qualifié disposant des privilèges « Administrateur » (Administrator) ou « Analyste » (Analyst), en suivant les instructions de la GUI.

Les résultats de l'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif, spécifiques au lot de réactifs d'amplification, expirent **au bout de 15 jours**.

Les résultats des analyses de l'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif sont utilisés par le logiciel de l'instrument pour paramétrer les « Graphiques de contrôle » (Control Charts). Quatre résultats de contrôle positif et de contrôle négatif, provenant de quatre analyses différentes, sont nécessaires pour configurer le « Graphique de contrôle » (Control Chart). Ensuite, les résultats du contrôle positif et du contrôle négatif sont utilisés pour surveiller les performances de l'étape d'amplification. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Remarque : si les résultats du contrôle positif ou du contrôle négatif d'amplification ne satisfont pas les critères d'acceptation, le message « Échec » (Failed) s'affiche dans l'écran « Contrôles » (Controls) et il ne peuvent pas être approuvés. Dans ce cas, la réaction du contrôle positif ou du contrôle négatif d'amplification doit être répétée.

Remarque : si le contrôle positif ou le contrôle négatif est analysé avec des échantillons à tester et que son résultat est non valide, l'intégralité de la session est non valide. Dans ce cas, l'amplification de tous les échantillons doit être également répétée.

C. Validation des résultats de l'échantillon

Les signaux de fluorescence émis par la sonde pour le VHE (Canal 1 « HEV ») et par la sonde du contrôle interne (Canal 2 « IC ») dans les réactions d'amplification de l'échantillon sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans le protocole de test HEV ELITe_PL_200_100 et HEV ELITe_ST_200_100.

Les résultats sont présentés dans les rapports générés par l'instrument (« Affichage des résultats » [Results Display]).

L'analyse de l'échantillon peut être approuvée lorsque les trois conditions indiquées dans le tableau ci-dessous sont satisfaites.

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

Pour chaque échantillon, le résultat du test est automatiquement interprété par le système selon l'algorithme du logiciel ELITe InGenius et les paramètres du protocole de test.

Les messages des résultats possibles sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
VHE : ARN détecté, quantité égale à XXX copies/ml ou IU/ml (HEV: RNA Detected, quantity equal to XXX copies/mL or IU/mL).	L'ARN du VHE a été détecté dans l'échantillon dans la plage de mesure du test ; la quantité est celle affichée.
VHE : ARN détecté, quantité inférieure au nombre de copies/ml ou IU/ml de la LLoQ (HEV: RNA Detected, quantity below LLoQ copies/mL or IU/mL).	L'ARN du VHE a été détecté dans l'échantillon en une quantité inférieure à la limite inférieure de quantification du test.
VHE : ARN détecté, quantité supérieure au nombre de copies/ml ou IU/ml de la ULoQ (HEV: RNA Detected, quantity beyond ULoQ copies/mL or IU/mL).	L'ARN du VHE a été détecté dans l'échantillon en une quantité supérieure à la limite supérieure de quantification du test.
VHE : ARN non détecté ou inférieur au nombre de copies/ml ou IU/ml de la LoD (HEV: RNA Not Detected or below the LoD copies/mL or IU/mL).	L'ARN du VHE n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ARN du VHE ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Non valide - Tester à nouveau l'échantillon (Invalid - Retest Sample).	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du contrôle interne (extraction incorrecte, contamination par des inhibiteurs). Le test doit être répété.

Remarque : les résultats obtenus avec un surnageant de selles doivent être considérés comme semi-quantitatifs. Ces résultats sont uniquement exprimés en copies/ml.

Les échantillons rapportés comme « Non valide - Tester à nouveau l'échantillon » (Invalid - Retest Sample) par le logiciel ELITe InGenius ne sont pas appropriés pour l'interprétation des résultats. Dans ce cas, l'ARN du contrôle interne n'a pas été efficacement détecté en raison de problèmes lors de l'étape de transcription inverse et l'étape d'amplification ou d'extraction (dégradation d'ARN, perte d'ARN pendant l'extraction ou contamination par des inhibiteurs dans l'éluat), ce qui peut générer des résultats incorrects.

Lorsque le volume d'éluat est suffisant, l'échantillon extrait peut être à nouveau testé par une analyse d'amplification en mode « PCR uniquement » (PCR Only). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'une nouvelle aliquote à l'aide du mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

Les échantillons rapportés comme « ARN du VHE non détecté ou inférieur la LoD » (HEV RNA Not Detected or below LoD) sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter l'ARN du VHE. Dans ce cas, il n'est pas possible d'exclure le fait que de l'ARN soit présent à une concentration inférieure à la limite de détection du test (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

Remarque : les résultats obtenus avec ce test doivent être interprétés en tenant compte de l'ensemble des données cliniques et des autres résultats d'analyse de laboratoire du patient.

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

D. Rapport des résultats de l'échantillon

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

Le « Rapport échantillons » (Sample Report) présente les détails d'une session de travail triés par échantillon sélectionné (SID).

Le « Rapport des positions » (Track Report) présente les détails d'une session de travail par position sélectionnée.

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

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Sensibilité analytique : limite de détection (LoD)

La sensibilité analytique de ce test, en ce qui concerne la sensibilité de la réaction de transcription inverse et d'amplification, permet de détecter environ 10 copies d'ARN dans 10 µl d'échantillon ajoutés à la réaction.

La sensibilité analytique de ce test, en tant que limite de détection (LoD), a été définie avec des échantillons de plasma EDTA et des échantillons de surnageant de selles en association avec le système ELITe InGenius.

La LoD a été calculée en testant un panel d'échantillons de plasma EDTA négatifs qui ont été dopés avec un matériel de référence certifié du VHE (PEI) dont le titre était connu. Six niveaux de dilution ont été préparés, en commençant à une concentration plus élevée que la valeur de LoD attendue. Chaque niveau de dilution a été traité en 12 réplicats sur le système ELITe InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR). La LoD a été définie comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 % obtenue par une analyse de régression des probits des données. La valeur de LoD a été vérifiée en testant 20 réplicats de plasma prélevé sur EDTA et 20 réplicats de surnageant de selles dopés avec un matériel de référence certifié du VHE à la concentration revendiquée.

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Limite de détection du VHE dans le plasma et un surnageant de selles à l'aide du système ELITe InGenius (IU/ml)		
LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
	limite inférieure	limite supérieure
288 IU/ml	183 IU/ml	768 IU/ml

La LoD, exprimée en copies/ml pour le plasma EDTA, a été calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué à la page 17. La sensibilité analytique, en copies/ml, est indiquée ci-dessous.

Limite de détection du VHE dans le plasma à l'aide du système ELITe InGenius (copies/ml)		
LoD	Intervalle de confiance à 95 %	
	limite inférieure	limite supérieure
153 copies/ml	97 copies/ml	409 copies/ml

Plage de mesure linéaire

La sensibilité analytique de ce test, en ce qui concerne la plage de mesure linéaire, permet de quantifier environ 10 000 000 à environ 100 copies par ml. Le plage de mesure linéaire a été déterminée en utilisant un panel d'échantillons artificiels dopés avec un matériel de référence certifié du VHE.

La linéarité de ce test, utilisé en association avec le système ELITe InGenius, a été vérifiée en utilisant un panel de dilutions de l'ARN du VHE. Le panel a été préparé en diluant le produit « Quantitative Synthetic Hepatitis E virus RNA » (ATCC, code VR-3258SD) dans un tampon de stabilisation. Le panel consistait en six points de dilution (étapes de dilution de 1 log) à partir de 10⁷ copies/ml jusqu'à 10² copies/ml. Chaque échantillon du panel a été testé en 12 réplicats en effectuant la procédure d'analyse complète à l'aide du système ELITe InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR) et des produits ELITechGroup S.p.A. L'analyse des données obtenues, utilisant une régression polynomiale, a démontré que le test présentait une réponse linéaire pour toutes les dilutions.

La limite inférieure de la plage de mesure linéaire a été définie comme la concentration la plus faible qui générerait 100 % de positivité et des résultats quantitatifs exacts et précis à ± 0,5 log.

La limite supérieure de la plage de mesure linéaire a été définie comme la concentration la plus élevée qui générerait des résultats quantitatifs exacts et précis à ± 0,5 Log.

La plage de mesure linéaire, exprimée en IU/ml pour le plasma EDTA, est calculée en appliquant le facteur de conversion spécifique indiqué à la page 17.

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Plage de mesure linéaire testée sur le VHE dans du plasma avec le système ELiTe InGenius	
Limite inférieure	Limite supérieure
288 IU/ml	18 800 000 IU/ml
153 copies/ml	10 000 000 copies/ml

Plage de mesure linéaire testée sur le VHE dans un surnageant de selles avec le système ELiTe InGenius	
Limite inférieure	Limite supérieure
500 copies/ml	10 000 000 copies/ml

Inclusivité : efficacité de détection et de quantification de différents génotypes/sous-types

L'efficacité de détection de différents génotypes a été évaluée par une comparaison avec des séquences disponibles dans la base de données de nucléotides ENA de l'EBI.

L'analyse des régions choisies pour l'hybridation des amorces et des sondes fluorescentes dans l'alignement des séquences disponibles dans la base de données pour la région de l'ORF-2 du VHE des génotypes 1, 2, 3, 3a et 4 a montré leur conservation et une absence de mutations significatives.

Une étude récente des séquences dans la base de données de nucléotides EBI ENA a identifié deux groupes de mutations significatives (par exemple MW355395 et MH377727) dans la région d'hybridation de la sonde. L'effet de ces mutations a été vérifié et l'efficacité de détection/quantification de ces variantes, bien que mineures, se situe dans la fourchette de $\pm 0,5$ Log. Il est possible d'identifier la présence de ces variants par l'analyse de la température de fusion (T_m) par l'opérateur (voir "Problèmes et solutions").

L'inclusivité du test, en ce qui concerne l'efficacité de détection et de quantification de différents génotypes/sous-types, a été évaluée en utilisant le « 1^{er} panel de référence international de l'Organisation mondiale de la Santé pour les techniques d'amplification des acides nucléiques (TAN) des génotypes du virus de l'hépatite E (VHE) » (Paul Enrich Institut, code 8578/13).

Chaque échantillon du panel a été testé en effectuant la procédure d'analyse complète en association avec le système ELiTe InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Échantillon	Génotype	Moyenne globale Log IU/ml	Écart-type	Log IU/ml mesurés
8567/13	1a	2,64	0,60	2,61
8568/13s	1a	4,25	0,43	4,37
8569/13	1e	3,25	0,51	3,13
8570/13	3b	4,20	0,18	4,45
8571/13	3c	3,40	0,22	3,46
8572/13	3e	3,50	0,22	3,66
8573/13	3f	3,84	0,41	3,61
8574/13s	3 (de type lapin)	4,98	0,38	4,78
8575/13	4c	4,07	0,38	3,85
8576/13	4g	3,77	0,38	3,36
8577/13s	2a	5,42	0,49	4,96

Tous les échantillons ont été correctement détectés. Les échantillons ont été quantifiés dans la plage définie par l'étude collaborative de l'OMS ± 1 EC, à l'exception des échantillons 8570/13, 8576/13 et 8577/13s qui, en revanche, étaient compris à $\pm 0,5$ Log.

Marqueurs potentiellement interférents

La réactivité croisée potentielle du test avec d'autres organismes non souhaitables a été évaluée par une analyse *in silico* des séquences disponibles dans la base de données de nucléotides ENA de l'EBI.

Les régions choisies pour l'hybridation des amorces et des sondes fluorescentes ont été vérifiées par rapport à un alignement des séquences d'autres virus et bactéries. Les régions d'hybridation ont montré une absence d'homologies significatives et n'ont indiqué aucune interférence potentielle.

L'absence de réactivité croisée avec d'autres organismes qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques de plasma a également été vérifiée en testant un panel de matériels de référence certifiés.

Des échantillons d'ADN ou d'ARN génomique de différents organismes exerçant une réactivité croisée

potentielle (ATCC, NIBSC et Qnostics) ont été analysés en trois réplicats en association avec le système ELiTe InGenius en mode « PCR uniquement » (PCR Only).

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Organismes exerçant une réactivité croisée potentielle		
Organisme	Souche	Résultat
CMV	AD-169	Aucune réactivité croisée
HSV-1	McIntyre	Aucune réactivité croisée
HSV-2	G	Aucune réactivité croisée
EV	Entérovirus 71	Aucune réactivité croisée
EBV	B95-8	Aucune réactivité croisée
BKV	1b-2	Aucune réactivité croisée
JCV	1A	Aucune réactivité croisée
WNV	NY99	Aucune réactivité croisée

Tous les organismes exerçant une réactivité croisée potentielle se sont révélés négatifs pour la cible lorsqu'ils ont été testés à l'aide du HEV ELiTe MGB® Kit.

L'absence d'interférence par d'autres organismes qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques de plasma a été vérifiée en testant un panel de matériels de référence certifiés.

Des échantillons d'ADN ou d'ARN génomique de différents organismes exerçant une réactivité croisée potentielle (ATCC, NIBSC et Qnostics) ont été dopés avec un matériel de référence certifié du VHE (ATCC) à une faible concentration (environ 10 copies/réaction). Les échantillons ont été analysés en trois réplicats en association avec le système ELiTe InGenius en mode « PCR uniquement » (PCR Only).

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Organismes potentiellement interférents		
Organisme	Souche	Résultat
CMV	AD-169	Aucune interférence
HSV-1	McIntyre	Aucune interférence
HSV-2	G	Aucune interférence
EV	Entérovirus 71	Aucune interférence
EBV	B95-8	Aucune interférence
BKV	1b-2	Aucune interférence
JCV	1A	Aucune interférence
WNV	NY99	Aucune interférence

Tous les organismes potentiellement interférents n'avaient aucune influence sur l'amplification de la cible lorsqu'ils ont été testés à l'aide du HEV ELiTe MGB® Kit.

Substances potentiellement interférentes

L'effet de substances potentiellement interférentes a été évalué en analysant le panel « AcroMetrix® Inhibition Panel » (Life Technologies Inc.), qui contient des substances endogènes entraînant une hémolyse, un ictere et une lipémie, ainsi que des substances exogènes, notamment les anticoagulants EDTA et héparine.

Les échantillons du panel d'inhibition ont été dopés avec un matériel de référence certifié du VHE (PEI) à une concentration équivalente à environ 3X la LoD. Les échantillons ont été traités en trois réplicats sur le système ELiTe InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

Les valeurs Ct de la cible et du contrôle interne (échantillons de référence et de test) ont été utilisées pour calculer le pourcentage du coefficient de variation (% CV) afin d'évaluer l'éventuelle interférence.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Substances potentiellement interférentes			
Échantillon	Pos./Rép.	% CV Ct VHE	% CV Ct IC
Plasma EDTA	3/3	2,092	3,434
Sang hémolytique, faible concentration	3/3	1,134	0,842
Sang hémolytique, concentration moyenne	3/3	1,209	0,590
Sang hémolytique, concentration élevée	3/3	1,768	0,983
Plasma hépariné	3/3	1,775	3,731
Plasma lipémique	3/3	1,070	2,653
Plasma icterique	3/3	1,313	0,797

Comme attendu, tous les échantillons se sont révélés positifs pour la cible d'intérêt. Le pourcentage % CV des valeurs Ct était inférieur à 4 %. Aucune des substances testées aux concentrations indiquées n'a interféré avec la détection de la cible à l'aide du HEV ELiTe MGB® Kit.

Répétabilité

La répétabilité des résultats du test en association avec le système ELiTe InGenius a été testée en analysant un panel d'échantillons de plasma EDTA. Le panel incluait un échantillon négatif et trois échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VHE (PEI) à une concentration de 0,5X la LoD (environ 144 IU/ml), 1,5X la LoD (environ 431 IU/ml), et 3X la LoD (environ 861 IU/ml).

La répétabilité a été obtenue en analysant les échantillons du panel en trois réplicats, à raison de deux analyses par jour, en utilisant le même lot de produit. Trois lots de produit ont été utilisés sur trois jours différents avec le même instrument et le même opérateur. Les échantillons ont été traités sur le système ELiTe InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

Les valeurs Ct de la cible et du contrôle interne ont été utilisées pour calculer le % CV afin d'évaluer la répétabilité en tant qu'imprécision.

Un résumé des résultats est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Répétabilité intra-session							
Échantillon	Pos./Nég.	VHE			Contrôle interne		
		Valeur Ct moyenne	EC	% CV	Valeur Ct moyenne	EC	% CV
Négatif	0/6	NA	NA	NA	30,27	0,27	0,90
0,5X la LoD	5/6	39,80	0,57	1,42			
1,5X la LoD	6/6	38,77	0,89	2,28			
3X la LoD	6/6	37,75	0,82	2,17			

Répétabilité inter-lots							
Échantillon	Pos./Nég.	VHE			Contrôle interne		
		Valeur Ct moyenne	EC	% CV	Valeur Ct moyenne	EC	% CV
Négatif	0/18	NA	NA	NA	29,95	0,37	1,23
0,5X la LoD	16/18	39,62	0,71	1,80			
1,5X la LoD	18/18	38,46	0,95	2,47			
3X la LoD	18/18	37,55	0,75	2,01			

Dans le test de répétabilité, l'analyse détectait la cible VHE comme attendu et montrait un faible % CV des valeurs Ct qui n'excédait pas 3 % pour le VHE et 2 % pour le contrôle interne.

Reproductibilité

La reproductibilité des résultats du test en association avec le système ELiTe InGenius a été testée en analysant un panel d'échantillons de plasma EDTA. Le panel incluait un échantillon négatif et trois échantillons dopés avec un matériel de référence certifié du VHE (PEI) à une concentration de 0,5X la LoD (environ 144 IU/ml), 1,5X la LoD (environ 431 IU/ml), et 3X la LoD (environ 861 IU/ml).

La reproductibilité a été obtenue en analysant les échantillons du panel en trois réplicats, à raison de deux analyses par jour. Trois lots de produit différents ont été utilisés sur trois jours différents, sur trois instruments différents et par trois opérateurs différents. Les échantillons ont été traités sur le système ELiTe InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

Les valeurs Ct de la cible et du contrôle interne ont été utilisées pour calculer le % CV afin d'évaluer la reproductibilité en tant qu'imprécision.

Un résumé des résultats est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Reproductibilité							
Échantillon	Pos./Nég.	VHE			Contrôle interne		
		Valeur Ct moyenne	EC	% CV	Valeur Ct moyenne	EC	% CV
Négatif	0/18	NA	NA	NA	30,04	0,33	1,10
0,5X la LoD	14/18	39,43	0,66	1,68			
1,5X la LoD	18/18	38,24	0,60	1,58			
3X la LoD	18/18	36,90	0,40	1,07			

Dans le test de reproductibilité, l'analyse détectait la cible VHE comme attendu et montrait un faible % CV des valeurs Ct qui n'excédait pas 2 % pour le VHE et le contrôle interne.

Facteur de conversion en unités internationales

Le facteur de conversion, permettant d'exprimer les résultats quantitatifs en unités internationales/ml à partir d'un nombre de copies/ml, a été calculé en utilisant un panel de quatre dilutions (0,5 log entre les dilutions) du matériel de référence étalonné « 1^{er} étalon international de l'Organisation mondiale de la Santé pour les techniques d'amplification des acides nucléiques (TAN) du virus de l'hépatite E » (PEI, Allemagne, code 6329/10) dans du plasma prélevé sur EDTA qui était négatif pour l'ARN du VHE.

Chaque point du panel a été testé en 9 réplicats avec trois lots de produit différents, sur trois instruments différents et trois jours différents. Les échantillons ont été traités sur le système ELiTe InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

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

Facteur de conversion en unités internationales avec le système ELiTe InGenius	
Plasma EDTA	Fc = 1,88 IU/copie

Le facteur de conversion a été calculé pour des échantillons de plasma uniquement. Étant donné que les résultats sont uniquement semi-quantitatifs avec un surnageant de selles, aucun facteur de conversion n'a été calculé pour cette matrice.

Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en analysant 30 échantillons de plasma et 30 échantillons de surnageant de selles.

Les échantillons étaient présumés négatifs et ont été analysés à l'aide du test en association avec le système ELiTe InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	positifs	négatifs	non valides
Plasma EDTA négatif pour le VHE	30	0	30	0
Surnageant de selles négatif pour le VHE	30	0	30	0

Dans le test, tous les échantillons ont été confirmés comme valides et négatifs. Dans ce test, la spécificité de l'analyse était égale à 100 %.

Sensibilité diagnostique : confirmation des échantillons positifs

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en analysant 30 échantillons de plasma et 30 échantillons de surnageant de selles dopés avec un matériel de référence du VHE.

Les échantillons négatifs utilisés dans le test de spécificité diagnostique ont été dopés avec un matériel de référence du VHE (PEI) à trois concentrations différentes (3x la LoD, 10x la LoD et 30x la LoD). Les échantillons dopés ont été analysés à l'aide du test en association avec le système ELiTe InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	positifs	négatifs	non valides
Plasma EDTA dopé par le VHE	30	30	0	0
Surnageant de selles dopé par le VHE	30	29	1	0

Dans le test, 30 échantillons de plasma dopés sur 30 ont été confirmés comme positifs et 29 échantillons de surnageant de selles dopés sur 30 ont été confirmés comme positifs. Un échantillon dopé à 3X la LoD a généré un résultat négatif discordant.

Dans ce test, la sensibilité diagnostique de l'analyse pour le plasma était égale à 100 % et le sensibilité diagnostique de l'analyse pour un surnageant de selles était égale à 96,7 %.

Remarque : 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 « HEV ELITe MGB Kit », FTP RTS130ING.

BIBLIOGRAPHIE

J. J. Germer et al. (2017) *J Clin Microbiology* **55** (5): 1478 – 1487

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

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser ce produit uniquement avec les échantillons cliniques suivants : plasma prélevé sur EDTA, surnageant de selles.

Ne pas utiliser ce produit avec des échantillons de plasma prélevé dans de l'héparine : l'héparine inhibe la réaction d'amplification des acides nucléiques et génère des résultats non valides.

Ne pas utiliser ce produit avec des échantillons contenant une quantité excessive de matrice fécale – les échantillons présentant une turbidité élevée inhibent la réaction d'amplification des acides nucléiques et peuvent entraîner des résultats non valides.

Ne pas utiliser ce produit avec une quantité d'ADN ou d'ARN extrait supérieure à 1 µg : une grande quantité d'acides nucléiques peut inhiber les réactions de transcription inverse et d'amplification, et risque de générer des résultats non valides.

Il n'existe actuellement aucune donnée disponible en ce qui concerne les performances du produit avec les échantillons cliniques suivants : sang total prélevé sur EDTA.

Les résultats obtenus avec ce produit dépendent de l'identification, du prélèvement, du transport, de la conservation et du traitement corrects 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 les produits pour l'extraction des acides nucléiques.

La méthode d'amplification en temps réel utilisée dans ce produit présente une sensibilité analytique élevée qui la rend sensible aux contaminations croisées par les échantillons cliniques positifs, les contrôles positifs et les produits d'amplification eux-mêmes. Les contaminations croisées peuvent générer des résultats faux-positifs. Le format du produit est capable de limiter les contaminations croisées. Toutefois, les contaminations croisées ne peuvent être évitées 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 des vêtements de travail 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 vêtements spéciaux et d'utiliser des instruments dédiés au paramétrage des sessions de travail afin d'éviter tout résultat faux-positif.

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 signifie 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.

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 au sein de la région de l'ARN cible couverte par les amorces et les sondes du produit peuvent affecter la détection et la quantification de l'ARN cible.

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

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, il existe un risque résiduel d'obtention de résultats non valides, faux-positifs et faux-négatifs 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.

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Réaction des étalons Q-PCR Standard ou du contrôle positif non valide Courbe d'étalonnage non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du mélange réactionnel complet, des étalons Q-PCR Standards et du contrôle positif. Vérifier le volume du mélange réactionnel complet, des étalons Q-PCR Standards 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 trois sessions (7 heures dans la « Zone inventaire » [Inventory Area]). Ne pas laisser le mélange réactionnel complet à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.
Dégradation des étalons Q-PCR Standards ou du contrôle positif.	Utiliser de nouvelles aliquotes des étalons Q-PCR Standards ou du contrôle positif.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

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 mélange réactionnel complet ou de ses composants.	Préparer à nouveau le mélange réactionnel complet. Utiliser une nouvelle aliquote des composants.
Contamination du contrôle négatif.	Utiliser une nouvelle aliquote d'eau de qualité biologie moléculaire.
Contamination de la zone d'extraction, des portoirs ou du « Bloc inventaire » (Inventory Block).	Nettoyer les surfaces avec des détergents aqueux, laver les blouses de laboratoire, remplacer les tubes à essai et les cônes utilisés.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

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 trois sessions (7 heures dans la « Zone inventaire » [Inventory Area]). 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.
Dégradation de la matrice du contrôle interne.	Utiliser une nouvelle aliquote du contrôle interne.
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification avec une dilution à 1:2 de l'échantillon élué, dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « PCR uniquement » (PCR Only). Répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon primaire dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « Extraction + PCR » (Extract + PCR).
Dégradation de l'échantillon.	Répéter l'extraction avec une nouvelle aliquote de l'échantillon.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Présence d'une courbe de dissociation anormale	
Causes possibles	Solutions
Absence d'un pic défini. Pic défini mais différent des autres échantillons et standards ou du contrôle positif.	Vérifier que le Ct du détecteur FAM est inférieur à 30. De grandes quantités de produit d'amplification présentes à la fin de la réaction peuvent interférer avec l'analyse de la courbe de dissociation. Répéter l'amplification de l'échantillon pour confirmer la présence d'un ADN cible avec une éventuelle mutation. Pour confirmer la présence d'une mutation, l'ADN cible présent dans l'échantillon doit être séquencé.

Erreur 30103	
Causes possibles	Solutions
Concentration de la cible trop élevée dans l'échantillon.	En cas d'observation d'une amplification significative sur la courbe de PCR : - sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat. Si une valeur Ct est requise : - répéter l'amplification avec une dilution à 1:10 de l'échantillon élué, dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « PCR uniquement » (PCR Only) ou - répéter l'extraction avec une dilution à 1:10 de l'échantillon primaire dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

Erreur TH	
Causes possibles	Solutions
Concentration de la cible trop élevée dans l'échantillon.	En cas d'observation d'une amplification significative sur la courbe de PCR avec une valeur de référence négative : - répéter l'amplification avec une dilution à 1:10 de l'échantillon élué, dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « PCR uniquement » (PCR Only) ou - répéter l'extraction avec une dilution à 1:10 de l'échantillon primaire dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

LÉGENDE DES SYMBOLES

	Numéro de référence.
	Limite supérieure de température.
	Code de lot.
	Date de péremption (dernier jour du mois).
	Conforme aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> .
	Contenu suffisant pour « N » tests.
	Attention, consulter le mode d'emploi.
	Contenu.
	Tenir à l'abri de la lumière du soleil.
	Fabricant.

NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

Les réactifs de détection ELITe MGB® sont couverts par un ou plusieurs des brevets américains numéros 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,163,910, 8,389,745, 8,969,003, 8,980,855, 9,056,887, 9,085,800, 9,169,256 et par les brevets EP numéros 1068358, 1144429, 1232157, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939, ainsi que par des demandes de brevet actuellement en instance.

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

ELITe MGB®, le logo ELITe MGB® et ELITe InGenius® sont des marques déposées d'ELITechGroup au sein de l'Union européenne.