

NOTICE of CHANGE dated 14/03/19

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«Meningitis Viral ELITe MGB® Panel» Ref. RTS507ING

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

- *Modification of the indication of the number of reactions to be prepared in excess during preparation of the complete reaction mixture MV PCR Mix.*

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



Meningitis Viral ELITE MGB® Panel

réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS507ING

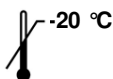


TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	Page 1
PRINCIPE DU TEST	Page 2
DESCRIPTION DU PRODUIT	Page 2
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 6
CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES	Page 13
LIMITES DE LA PROCÉDURE	Page 17
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	Page 18
LÉGENDE DES SYMBOLES	Page 19
NOTE POUR L'ACQUEREUR: LICENCE LIMITEE	Page 20

APPLICATION

Le produit «Meningitis Viral ELITE MGB® Panel» fait partie d'un test qualitatif d'amplification des acides nucléiques pour la recherche de l'ADN des gènes des herpès simplex virus 1 et 2 (HSV1 & HSV2) et du virus varicella zoster (VZV) à partir des échantillons de liquide céphalorachidien (LCR).

Le produit est utilisé, conjointement avec les données cliniques du patient et les résultats d'autres examens de laboratoire, dans le diagnostic de l'herpès simplex virus de type 1 et 2 et du virus varicella zoster.

Meningitis Viral ELITE MGB® Panel

réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS507ING

PRINCIPE DU TEST

Le test comporte l'exécution d'une réaction multiplex d'amplification en temps réel, avec un système automatisé et intégré d'extraction, d'amplification en temps réel et d'interprétation des résultats.

A partir de l'ADN extrait des échantillons testés, trois réactions spécifiques d'amplification ont lieu dans la cartouche pour les virus suivants:

- herpès simplex virus 1, détecté par une sonde spécifique dans le domaine "HSV1" de ELITE InGenius
- herpès simplex virus 2, détecté par une sonde spécifique dans le domaine "HSV2" de ELITE InGenius
- virus varicella zoster, détecté par une sonde spécifique dans le domaine "VZV" de ELITE InGenius

Par ailleurs, le contrôle interne d'extraction et d'inhibition (IC), basé sur une cible exogène (des séquences du Cytomégalo virus murin mCMV) est également amplifié et détecté par une sonde spécifique dans le domaine "IC" de ELITE InGenius.

Les sondes utilisent la technologie TaqMan™ MGB. Elles sont activées lorsqu'elles s'hybrident avec le produit de la réaction d'amplification et sont hydrolysés par l'enzyme Taq polymérase thermostable. L'émission de la fluorescence, qui augmente au fur et à mesure qu'augmentent les produits spécifiques de la réaction d'amplification est mesurée et enregistrée par l'instrument. Le traitement des données permet de détecter la présence d'ADN bactérien dans l'échantillon.

Le test a été validé avec un système automatisé intégré d'extraction, d'amplification et de détection d'acides nucléiques **ELITE InGenius®**.

DESCRIPTION DU PRODUIT

Le produit « Meningitis Viral ELITE MGB® Panel », contient les éléments suivants:

• MV primer and probe mix

Un mélange des amorces d'oligonucléotides pour l'amplification en temps réel, dans une solution stabilisée, pré-aliquotée en deux tubes (bouchon VIOLET). Chaque tube contient **90 µL** de solution, quantité suffisante pour **48 tests** dans des conditions optimales de consommation du réactif (nombre de réactions correspondantes en multiples de 4 et avec un maximum de 8 sessions) associé au système **ELITE InGenius**.

• MV buffer mix

Un mélange des réactifs optimisé et stabilisé pour l'amplification en temps réel, pré-aliquoté en deux tubes (bouchon ORANGE). Chaque tube contient **750 µL** de solution, quantité suffisante pour **48 tests** dans des conditions optimales de consommation du réactif (nombre de réactions correspondantes en multiples de 4 et avec un maximum de 8 sessions) associé au système **ELITE InGenius**.

• MV enzyme

Un mélange des enzymes stabilisé pour l'amplification en temps réel, pré-aliquoté en deux tubes (bouchon JAUNE). Chaque tube contient **60 µL** de solution, quantité suffisante pour **48 tests** dans des conditions optimales de consommation du réactif (nombre de réactions correspondantes en multiples de 4 et avec un maximum de 8 sessions) associé au système **ELITE InGenius**.

Le produit permet d'effectuer **96 déterminations associé au système ELITE InGenius**, en incluant les contrôles.

MATÉRIEL FOURNI

Composant	Description	Quantité	Classification et Étiquetage
MV primer and probe mix	mélange d'oligonucléotides, d'amorces et des sondes pour HSV1, HSV2, VZV et IC (mCMV) (bouchon VIOLET)	2 x 90 µL	-
MV buffer mix	mélange de réactifs RT-PCR (bouchon ORANGE)	2 x 750 µL	-
MV enzyme	mélange d'enzymes RT-PCR (bouchon JAUNE)	2 x 60 µL	-

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants sans poudre, jetables en nitrile ou équivalent.
- Vortex.
- Microcentrifugeuse de paillasse (12.000 - 14.000 Tr/min).
- Micro pipettes et embouts stériles avec filtre pour aérosol ou à distribution positive (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tube Sarstedt 2,0 mL, bouchon à vis (Sarstedt Ref. 72.694.005).
- Eau ultra pure pour la biologie.

AUTRES PRODUITS REQUIS

Les réactifs pour l'extraction d'ADN des échantillons à analyser, le contrôle interne de l'extraction, le contrôle positif de l'amplification et consommables **ne sont pas** fournis dans ce produit.

Pour l'extraction automatique de l'ADN, l'amplification en temps réel et l'interprétation des résultats des échantillons à analyser, sont requis l'outil «**ELiTe InGenius**» (ELiTechGroup S.p.A., code INT030), ainsi que les protocoles spécifiques suivants:

- paramètres pour le contrôle positif de l'amplification «**MV ELiTe_PC**» (ELiTechGroup S.p.A.),
- paramètres pour le contrôle négatif de l'amplification «**MV ELiTe_NC**» (ELiTechGroup S.p.A.),
- paramètres pour les échantillons à analyser «**MV ELiTe_CSF_200_100**» (ELiTechGroup S.p.A.).

Pour l'exécution automatique des tests avec l'instrument «**ELiTe InGenius**», sont aussi requis les produits génériques suivants:

- cartouches d'extraction «**ELiTe InGenius® SP 200**» (ELiTechGroup S.p.A., code INT032SP200),
- consommables pour extraction et amplification «**ELiTe InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELiTechGroup S.p.A., code SCH mINT032CS),
- cartouches d'amplification «**ELiTe InGenius® PCR Cassette**» (ELiTechGroup S.p.A., code INT035PCR),
- embouts «**300 µL Universal Filter Tips Axygen**» (Axygen BioScience Inc., CA, USA, code TF-350-R-L-S),
- collecteur «**ELiTe InGenius® Waste Box**» (ELiTechGroup S.p.A., code F2102-000).

Comme contrôle positif d'extraction et contrôle interne d'inhibition, il est nécessaire d'utiliser le produit générique «**500-Internal Control**» (ELiTechGroup S.p.A., codice IC500), une solution stabilisée contenant des séquences du CMV murin (mCMV).

Comme contrôle positif d'amplification, il est nécessaire d'utiliser le produit «**Meningitis Viral - ELiTe Positive Control**» (ELiTechGroup S.p.A. code CTR507ING), une solution stabilisée contenant de l'ADN plasmidique.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Ce produit est destiné à l'usage *in vitro* uniquement.

Avertissements et précautions

Manipuler et éliminer tous les échantillons biologiques susceptibles de pouvoir transmettre des agents infectieux. Éviter le contact direct avec les échantillons biologiques. Éviter les éclaboussures ou les aérosols. Le matériel qui entre en contact avec les échantillons biologiques doit être décontaminé à l'hypochlorite de sodium à 3% pendant au moins 30 minutes ou autoclavé à 121 °C pendant une heure avant d'être éliminé.

Manipuler et éliminer tous les réactifs et tous les matériaux utilisés pour le test comme s'ils étaient potentiellement infectieux. Éviter le contact direct avec les réactifs. Éviter les éclaboussures ou les aérosols. Les déchets doivent être traités et éliminés conformément aux normes de sécurité. Le matériel jetable combustible doit être incinéré. Les déchets liquides contenant des acides ou des bases doivent être neutralisés avant leur élimination.

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

Ne jamais pipeter les solutions à la bouche.

Ne pas manger, boire, fumer ou se maquiller dans l'environnement de travail.

Se laver parfaitement les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs.

Éliminer les réactifs en surplus et les déchets en respectant les réglementations en vigueur.

Se reporter à la dernière version du mode d'emploi disponible en ligne

Lire attentivement toutes les instructions fournies dans le produit avant de procéder au test.

Respecter scrupuleusement les consignes fournies dans le produit pendant l'exécution du test.

Ne pas utiliser le produit après la date de péremption indiquée sur l'emballage.

N'utiliser que les réactifs présents dans le produit et ceux conseillés par le fabricant.

Ne pas utiliser des réactifs provenant de lots différents.

Ne pas utiliser des réactifs d'autres fabricants.

Avertissements et précautions à adopter en biologie moléculaire

Les procédures de biologie moléculaire, doivent être effectuées par un personnel qualifié ayant reçu une formation appropriée afin d'éviter tout risque de résultats erronés dus en particulier à la dénaturation des acides nucléiques ou à la contamination des échantillons par des produits d'amplification.

Il est nécessaire de disposer de blouses, de gants et d'instruments dédiés pour la mise en place des séances de travail.

Les échantillons ne doivent être utilisés que pour ce type d'analyse. Les échantillons doivent être manipulés sous une hotte à flux laminaire. Les pipettes utilisées pour manipuler les échantillons ne doivent servir qu'à cet usage exclusif. Les pipettes doivent être du type à distribution positive ou être utilisées avec des embouts à filtre pour aérosol. Les embouts utilisés doivent être stériles, dépourvus de DNase et RNase, d'ADN et d'ARN.

Les cartouches d'amplification doivent être manipulées de manière à éviter autant que possible le rejet dans l'environnement des produits d'amplification et ainsi éviter la contamination par les échantillons et les réactifs.

Avertissements et précautions spécifiques concernant les composants

• MV primer and probe mix

Le mélange MV Primer and Probe mix doit être conservé à l'abri de la lumière et à une température de -20 °C. Le mélange MV Primer and Probe mix ne doit pas être congelé et décongelé plus de **huit fois**. Tout cycle de congélation / décongélation supplémentaire risque d'entraîner une perte des performances du produit.

• MV enzyme

Le mélange MV Enzyme doit être conservé à l'abri de la lumière et à une température de -20 °C.

Le mélange MV Enzyme ne doit pas être exposé à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes. Il est recommandé de stocker le mélange dans de la glace ou dans le bloc réfrigéré. Il peut être utilisé pour un maximum de **huit sessions**.

• MV buffer mix

Le mélange MV Buffer mix doit être conservé à -20 °C.

Le mélange MV Buffer mix ne doit pas être congelé et décongelé plus de **huit fois**. Tout cycle de congélation / décongélation supplémentaire risque d'entraîner une perte des performances du produit.

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

Ce produit doit être utilisé avec les échantillons cliniques suivants:

Liquide céphalorachidien (LCR).

Les échantillons de liquide céphalorachidien destinés à l'extraction des acides nucléiques doivent être récoltés dans des conteneurs sans conservateurs, suivant les indications du laboratoire en évitant la contamination par le sang du patient. Ils doivent être transportés et conservés à température de +2/+8 °C pendant un maximum de quatre heures. Autrement, ils peuvent être congelés et conservés à -20 °C pendant un maximum de 30 jours ou à -70 °C pour une période de temps plus longue, suivant les indications du laboratoire.

Il est conseillé de subdiviser en plusieurs aliquots les échantillons à conserver congelés de façon à ne pas les soumettre à plusieurs cycles de congélation / décongélation. Lorsque vous utilisez des échantillons congelés, décongelez les échantillons juste avant l'extraction de manière à éviter la potentielle dégradation par des acides nucléiques.

Remarque: lors de l'extraction de l'ADN à partir du liquide céphalorachidien avec **ELITe InGenius** et le logiciel **ELITe InGenius Software version 1.2** (ou version ultérieure équivalente) veuillez suivre le protocole **MV ELITe_CSF_200_100**. Ce protocole utilise 200 µL d'échantillon, avec ajout de 10 µL de contrôle interne **500-Internal Control** par extraction puis élution des acides nucléiques dans 100 µL.

Contrôles d'amplification

Avant l'analyse de chaque échantillon, il est impératif d'élaborer et de valider les contrôles d'amplification pour chaque lot de réactif utilisé durant le test :

comme Contrôle Positif d'amplification, utiliser le **Meningitis Viral - ELITe Positive Control** (non compris dans le kit) associé avec le protocole **MV ELITe_PC**,

comme Contrôle Négatif d'amplification, utiliser de l'eau ultra pure (non comprise dans le kit) associée avec le protocole **MV ELITe_NC**.

Remarque: Le système ELITe InGenius nécessite la validation des résultats des contrôles d'amplification pour chaque lot de réactif d'amplification enregistré dans la base de données.

La validation des résultats de contrôle de l'amplification, approuvés et enregistrés dans la base de données, expirera **après 15 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de retester les contrôles positifs et négatifs. Les contrôles d'amplification doivent être de nouveau testés dans l'un des cas suivants:

- Utilisation d'un nouveau lot de réactifs d'amplification
- Résultats des analyses de contrôle de qualité (voir paragraphe suivant) non conformes
- Intervention majeure de maintenance effectuée sur l'automate **ELITe InGenius**.

Contrôle qualité

Il est recommandé de valider périodiquement la procédure d'extraction et d'amplification en utilisant un échantillon négatif et un échantillon positif déjà testés ou du matériel de référence calibré.

PROCÉDURE

La procédure d'utilisation du produit **Meningitis Viral ELITe MGB® Panel** avec le système **ELITe InGenius** se déroule en trois étapes :

- Vérification de l'état du système
- Configuration de l'analyse
- Évaluation et approbation des résultats

Vérification de l'état du système

Avant de lancer l'analyse, en suivant les consignes imparties dans la documentation de l'automate, il est nécessaire de :

- allumer l'automate **ELITe InGenius** et sélectionner le mode **"CLOSED"** (fermé);
- vérifier que les contrôles d'amplification (Controls – MV Positive Control, MV Négative Control) fonctionnent, qu'ils soient approuvés en association avec le réactif à utiliser et qu'ils ne soient pas expirés (Statuts). Ce contrôle peut être effectué à partir du menu "Contrôle" dans la page d'accueil ;
- choisir le type d'analyse et la mettre en œuvre en suivant les instructions des protocoles des tests fournis par ELITechGroup. Ces protocoles IVD ont été validés spécifiquement avec les kits **ELITe MGB®** et l'automate **ELITe InGenius** et les matrices spécifiques citées. Le protocole du test disponible pour le **Meningitis Viral ELITe MGB® Panel** est illustré dans le tableau ci-dessous.

Protocole du test pour le kit Meningitis Viral ELITe MGB® Panel			
Nom	Matrice	Résultat	Caractéristiques
MV ELITe_CSF_200_100	liquide céphalorachidien (LCR)	Positif / Négatif	Volume d'extraction initial: 200 µL Volume de l'éluat: 100 µL Contrôle interne: 10 µL Sonication: NO Facteur de dilution: 1 Volume du Mix PCR: 15 µL Volume d'éluat utilisé pour la PCR: 10 µL

Si le protocole du test à réaliser n'est pas présent dans le système, contacter le Service clients local d'ELITechGroup.

Configuration de la session

Le kit **Meningitis Viral ELITe MGB® Panel** associé à l'automate **ELITe InGenius** peut être utilisé pour effectuer:

- Un Cycle complet (Extraction + PCR)
- Un Cycle d'amplification (PCR uniquement)
- Un Cycle d'amplification pour le Contrôle Positif et le Contrôle Négatif (PCR uniquement)

Le profil thermique d'amplification est compris dans le protocole du test disponible sur l'automate et il est automatiquement rappelé lors de la sélection du protocole.

Remarque: le système **ELITe InGenius** peut être connecté au "Serveur d'information Locale" (SIL) pour la transmission des résultats des patients. Pour plus de détails, consulter le Manuel d'Instructions de l'automate.

Les principales étapes de configuration des 3 types de cycles sont décrites ci-dessous.

A Cycle complet

Avant de commencer le cycle, vous devez:

1. Décongeler à température ambiante (+18 / 25 °C) les tubes contenant les échantillons à analyser. Mélanger avec un vortex pendant 10 secondes, centrifuger pendant 5 secondes et garder les tubes dans de la glace.
2. Décongeler pendant 30 minutes à température ambiante (+18 / 25 °C) les tubes MV primer and probe mix (bouchon VIOLET) nécessaires au cycle en rappelant que le contenu de chaque tube est suffisant pour préparer 48 réactions. Mélanger avec un vortex pendant 10 secondes trois fois, centrifuger pendant 5 secondes et garder les tubes dans de la glace.
3. Décongeler pendant 30 minutes à température ambiante (+18 / 25 °C) les tubes MV buffer mix (bouchon ORANGE) nécessaires au cycle en rappelant que le contenu de chaque tube est suffisant pour préparer 48 réactions. Mélanger avec un vortex pendant 10 secondes trois fois, centrifuger pendant 5 secondes et garder les tubes dans de la glace.
4. Retirer au moment de l'utilisation les tubes MV Enzyme (bouchon JAUNE) nécessaires au cycle en rappelant que le contenu de chaque tube est suffisant pour préparer 48 réactions. Agiter délicatement les tubes, centrifuger pendant 5 secondes pour et les conserver dans de la glace.

Remarque: L'enzyme MV Enzyme ne doit pas être exposée à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes.

5. Préparer un microtube de biologie moléculaire de grade polypropylène 2 ml (non fourni dans le kit) pour le mélange de réaction complète MV PCR Mix et le marquer d'une manière reconnaissable avec un marqueur permanent;
6. calculer les volumes des trois composants fournis dans les kits nécessaires pour préparer le mélange complet de MV PCR Mix selon le nombre d'échantillons à analyser, comme décrit dans le tableau présenté à la page suivante;

Remarque: pour calculer les volumes des trois composants, il est nécessaire de définir le nombre de réactions (N) de la séance de travail en ajoutant les échantillons cliniques à tester plus une réaction (lors de l'analyse de 1 à 4 échantillons), deux réactions (lorsque analyser de 5 à 8 échantillons), ou trois réactions (lors de l'analyse de 9 à 12 échantillons) comme marge de sécurité.

Nombres de réactions	MV primer and probe mix	MV buffer mix	MV enzyme
1	1,5 µL	12,5 µL	1 µL
N	N x 1,5 µL	N x 12,5 µL	N x 1 µL

7. Préparer le mélange complet de la réaction MV PCR Mix en ajoutant les volumes calculés des trois composants dans le tube dédié.

Remarque: Préparer le mélange complet de la réaction immédiatement avant le chargement de l'instrument.

Remarque: Le mélange réactionnel complet ne peut pas être stocké. Le mélange de réaction complet est stable pour une utilisation au cours de 3 sessions consécutives si il est laissé dans le bloc réfrigéré de l'instrument (Inventory Area). Il est très important de le remélanger entre les sessions.

Remarque: lors du pipetage du liquide ne pas immerger l'embout pour éviter le gaspillage de matériel et obtenir des volumes précis; le prélèvement et la distribution doivent être effectués très lentement afin d'éviter la formation de bulles d'air; d'éliminer l'excès de liquide à l'extérieur de l'embout, avant la dispensation, en plaçant la pointe sur le bord du tube; prendre soin de changer l'embout après chaque étape le prélèvement et de dispensation.

8. Mélanger avec un vortex faible vitesse trois fois pendant 10 secondes, centrifuger pendant 5 secondes et conserver les tubes dans de la glace.
9. Décongeler une quantité de tubes de contrôle interne **500 Internal Control** suffisante pour le cycle. Chaque tube permet la préparation de 32 réactions. Mélanger délicatement le contenu et centrifuger pendant 5 secondes.
10. Sélectionner "Perform Run" dans la page d'accueil.
11. Vérifier que le volume d'extraction initial soit de 200 µL et le volume de l'éluat soit de 100 µL.
12. Pour chaque échantillon à analyser, renseigner le "SampleID" (SID) en saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.

Pour configurer le cycle complet, suivre les indications ci-après conformément au logiciel et son interface graphique (**Graphical User Interface, GUI**):

1. Sélectionner "Perform Run" dans la page d'accueil "home".
2. Vérifier que le volume d'extraction initial ("Extraction Input Volume") est de 200 µL et le volume de l'éluat extrait ("Extracted Elute Volume") de 100 µL.
3. Pour chaque "Track" à utiliser, renseigner le "SampleID" (SID) en saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
4. Sélectionner le protocole du test à utiliser dans la colonne "Assay" (par exemple MV ELITe_CSF_200_100).
5. Vérifier que le Protocole affiché soit : "Extract + PCR".
6. Sélectionner la position de chargement de l'échantillon dans la colonne "Sample Position" :
- en cas d'utilisation d'un tube primaire, sélectionner "Primary Tube";
- en cas d'utilisation d'un tube secondaire, sélectionner "Sonication Tube".
Cliquer sur "Next" pour poursuivre la configuration.
7. Charger le contrôle interne 500 Internal Control et le MV PCR Mix dans le gestionnaire des réactifs sélectionné en suivant les instructions de l'interface graphique. Cliquer sur "Next" pour poursuivre la configuration.
8. Charger et contrôler les racks d'embouts dans la zone sélectionnée en suivant les instructions de l'interface graphique. Cliquer sur "Next" pour poursuivre la configuration.
9. Charger les cassettes de PCR, les cartouches d'extraction "ELITe InGenius SP 200" et tous les consommables, pour extraire la position spécifiée au paragraphe 15, en suivant les instructions GUI. Cliquer sur "Next" pour poursuivre la configuration.
10. Fermer l'automate.
11. Appuyer sur "Start" pour lancer le test.

Au terme de la procédure, l'ELITe InGenius permet d'afficher, approuver, enregistrer les résultats et d'imprimer et d'enregistrer le compte-rendu.

Remarque: Au terme du cycle, l'échantillon extrait dans le tube d'éluat ("Elution Tube") doit être retiré de l'automate, bouché, identifié et conservé à -20 °C jusqu'à 30 jours. Manipuler l'échantillon avec précaution pour éviter tout risque de contamination.

Remarque: Au terme du cycle, les cassettes PCR avec les produits de réaction et les consommables doivent être retirées de l'automate et éliminées en veillant à ne pas contaminer l'environnement. Éviter toute dispersion des produits de réaction.

B Cycle d'amplification

Pour configurer le cycle d'amplification, suivre les indications ci-après :

1. Décongeler à température ambiante (+18 / 25 °C) les tubes avec les échantillons extraits. Mélanger avec le vortex pendant 10 secondes, centrifuger pendant 5 secondes pour conserver le contenu dans le culot et conserver dans la glace.
2. Préparer le mélange complet de la réaction MV PCR Mix en transférant le tube dédié aux volumes calculés des trois composants tels que décrits dans la section A. Cycle complet (de l'étape 2 à l'étape 8).

Pour configurer le cycle intégré, suivre les indications ci-après conformément au logiciel et son interface graphique:

3. Sélectionner "Perform Run" dans la page d'accueil.
4. Même si aucune extraction ne sera pas effectuée, assurez-vous que l' "Extraction Input Volume" est réglé à 200 µL et que l' "Extracted Elute Volume" est réglé à 100 µL.
5. Pour chaque test à réaliser, renseigner le "SampleID" (SID) en saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
6. Sélectionner le protocole du test à utiliser dans la colonne "Assay" (par exemple MV ELITe_CSF_200_100).
7. Sélectionner "PCR only" dans la colonne "Protocol".
8. Contrôler que la position de chargement de l'échantillon élué dans la colonne "Sample Position" soit "Extra Tube" (bottom row)". Cliquer sur "Next" pour poursuivre la configuration.
9. Charger le MV PCR Mix dans le gestionnaire de réactifs sélectionné ("Inventory Block") en suivant les instructions GUI. Cliquer sur "Next" pour poursuivre la configuration.
10. Charger et contrôler les racks des embouts dans la zone sélectionnée ("Inventory Area") en suivant les instructions de l'interface graphique. Cliquer sur "Next" pour poursuivre la configuration.
11. Charger la cassette PCR et les échantillons d'acides nucléiques extraits en suivant les instructions GUI. Cliquer sur "Next" pour poursuivre la configuration.
12. Fermer l'automate.
13. Appuyer sur "Start" pour lancer la course.

Au terme de la procédure, l'ELITe InGenius permet d'afficher, approuver, enregistrer les résultats et d'imprimer et d'enregistrer le compte-rendu.

Remarque: Au terme du cycle, le reliquat d'échantillon dans le tube d'élution "Elution Tube" peut être retiré de l'automate, bouché, identifié et conservé à -20 °C jusqu'à 30 jours. Manipuler l'échantillon avec précaution pour éviter tout risque de contamination.

Remarque: Au terme du cycle, les cassettes PCR avec les produits de réaction et les consommables doivent être retirées de l'automate et éliminées en veillant à ne pas contaminer l'environnement. Éviter toute dispersion des produits de réaction.

C. Cycle d'amplification pour le Contrôle Positif et le Contrôle Négatif

Pour configurer le cycle d'amplification du Contrôle Positif, suivre les indications ci-après :

1. Préparer le mélange complet de la réaction MV Mix PCR en transférant le tube dédié aux volumes calculés des trois composants tels que décrits dans la section A. Cycle complet (de l'étape 2 à l'étape 8, ne pas décongeler le contrôle interne (500 Internal Control)).
2. Décongeler le produit MV Positive Control pour l'amplification du Contrôle Positif. Décongeler le tube à température ambiante. Chaque tube permet la préparation de 6 cycles. Mélanger délicatement le contenu et centrifuger pendant 5 secondes
3. Transférer au moins 50 µL de eau ultra pure dans un tube d'élution fourni avec ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set.

Pour configurer le cycle intégré, suivre les indications ci-après conformément au logiciel et son interface graphique:
4. Sélectionner "Perform Run" dans la page d'accueil "Home".
5. Dans le "Track" d'intérêt, sélectionnez le protocole de dosage à utiliser dans la colonne "Assay".
6. Pour le contrôle positif, sélectionner le protocole MV ELITe_PC dans la colonne "Assay" et indiquer le numéro de lot et la date d'expiration pour le contrôle MV Positive Control,
7. Pour le contrôle négatif, sélectionner le protocole MV ELITe_NC dans la colonne "Assay" et indiquer le numéro de lot et la date d'expiration pour l'eau ultra pure,
8. Cliquer sur "Next" pour poursuivre la configuration.
9. Charger le MV PCR Mix dans le gestionnaire des réactifs ("Inventory Block") sélectionné en suivant les instructions GUI. Cliquer sur "Next" pour poursuivre la configuration.
10. Charger et contrôler les racks des embouts dans la zone sélectionnée ("Inventory Area") en suivant les instructions de l'interface graphique. Cliquer sur "Next" pour poursuivre la configuration.
11. Charger la cassette PCR "PCR Cassettes", le tube de contrôle positif MV et le tube de contrôle négatif en suivant les instructions GUI. Cliquer sur "Next" pour poursuivre la configuration.
12. Fermer la porte de l'automate.
13. Appuyer sur "Start" pour lancer le cycle.

Au terme de la procédure, l'ELITe InGenius permet d'afficher, approuver, enregistrer les résultats et d'imprimer et d'enregistrer le compte-rendu.

Remarque: Les valeurs de Contrôle Positif et de Contrôle Négatif doivent être utilisées comme contrôle d'amplification, pour configurer la carte de contrôle. Pour configurer le graphique, quatre (4) valeurs de Contrôle Positif et de contrôle négatif de 4 séances différentes, sont requises. Au terme du paramétrage, les valeurs du contrôle positif et de contrôle négatif sont enregistrées par l'automate et utilisées pour surveiller la phase d'amplification. Pour plus de détails, se reporter au Manuel d'Utilisation de l'automate.

Remarque: Au terme du cycle, le reliquat de Contrôle Positif peut être retiré de l'automate, rebouché, annoté et conservé à -20°C. Manipuler l'échantillon avec précaution pour éviter tout risque de contamination

Remarque: Au terme du cycle, les cassettes PCR avec les produits de réaction et les consommables doivent être retirées de l'automate et éliminées en veillant à ne pas contaminer l'environnement. Éviter toute dispersion des produits de réaction.

Évaluation et approbation des résultats

Au terme du cycle, l'écran "Results Display" s'affiche automatiquement. Il affiche les résultats relatifs à échantillon /au calibrateur /au contrôle ainsi que les informations concernant le cycle. A partir de cet écran, il est possible d'approuver le résultat, d'imprimer ou d'enregistrer le compte-rendu ("Sample Report" ou "Track Report").

Remarque: le système ELITe InGenius® peut être connecté au serveur d'information locale SIL pour la transmission des résultats patients. Pour plus de détails, consulter le Manuel d'Instructions de l'automate.

Meningitis Viral ELITe MGB® Panel
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS507ING

Le système **ELITe InGenius** génère les résultats avec le kit **Meningitis Viral ELITe MGB® Panel**, en suivant cette procédure :

- A. Validation des résultats d'amplification du Contrôle Positif et Contrôle Négatif
- B. Validation des résultats de l'échantillon
- C. Élaboration du compte-rendu des résultats de l'échantillon

A. Validation des résultats d'amplification du Contrôle Positif et Contrôle Négatif

Les signaux de fluorescence émis par la sonde spécifique pour les gènes d'intérêts ("HSV1", "HSV2", "VZV") dans les réactions d'amplification du contrôle positif et négatif sont analysées automatiquement et interprétés par le logiciel de l'automate compte tenu des paramètres du protocole du test "MV ELITe_PC" et "MV ELITe_NC".

Les résultats d'amplification des contrôles positifs et négatifs, spécifiques au lot du réactif d'amplification, sont enregistrés dans la base de données (Controls). Ils peuvent être visualisés et approuvés par le personnel qualifié comme "Administrateur" ou "Analyste", suivant les instructions GUI.

Les résultats de l'amplification du Contrôle Positif et du Contrôle Négatif, spécifiques au lot du réactif d'amplification, expireront après **15 jours**.

Avant d'analyser un échantillon il est impératif de vérifier que le résultat de l'amplification du Contrôle Positif et du Contrôle Négatif pour le lot de réactif d'amplification utilisé soit approuvé et validé. La disponibilité des résultats d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif "Approved" (Status) s'affiche dans la fenêtre "Controls" du logiciel ELITe InGenius. Si le contrôle positif d'amplification et les résultats de contrôles négatifs sont manquants, les générer, comme décrit ci-dessus.

Remarque: Lorsque les résultats d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif ne satisfont pas aux critères de validité, le message "not passed" s'affiche sur l'automate et le contrôle ne peut être approuvé. Les réactions d'amplification du Contrôle Positif doivent être réitérées.

Remarque: Lorsque le Contrôle Positif ou le contrôle négatif est effectué comme contrôle d'amplification avec les échantillons et que le résultat n'est pas valide, toute l'étape est invalidée et l'amplification de tous les échantillons doit être réitérée.

B. Validation des résultats de l'échantillon

Les signaux de fluorescence émis par les sondes spécifiques pour les gènes d'intérêts ("HSV1", "HSV2", "VZV") et par la sonde du contrôle interne ("IC") dans les réactions d'amplification du Contrôle Positif et Négatif sont automatiquement analysés et interprétés par le logiciel de l'automate compte tenu des paramètres du protocole du test MV ELITe _CSF_200_100.

Remarque: Avant d'analyser chaque échantillon, vérifier que les contrôles d'amplification ont été réalisés avec le lot de réactif d'amplification à utiliser et que les résultats sont approuvés et en cours de validité. La disponibilité des résultats du contrôle d'amplification "Approuvé" est affichée dans la fenêtre "Controls" de l'interface graphique. Si les résultats du contrôle d'amplification sont manquants, les générer comme décrit ci-dessus.

Les résultats sont décrits dans les rapports élaborés par l'automate ("Result Display").

Le cycle de l'échantillon est valide lorsque les trois conditions reportées dans le tableau ci-dessous sont réunies.

1) Contrôle Positif	Statut
MV Positive Control	APPROVED
2) Contrôle Négatif	Statut
MV Negative Control	APPROVED

Meningitis Viral ELITe MGB® Panel
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS507ING

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

Les éventuels messages relatifs au résultat d'un échantillon sont indiqués dans le tableau ci-dessous.

Résultat du cycle de l'échantillon	Interprétation
HSV1: DNA Detected.	ADN du gène de l'herpès simplex virus 1 détecté dans l'échantillon.
HSV2: DNA Detected.	ADN du gène de l'herpès simplex virus 2 détecté dans l'échantillon.
VZV: DNA Detected.	ADN du gène de virus varicela zoster détecté dans l'échantillon.
HSV1: DNA Not Detected or below LoD.	ADN du gène de virus herpès simplex 1 non détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour ce gène ou sa présence est inférieure à la limite de détection du produit.
HSV2: DNA Not Detected or below LoD.	ADN du gène de virus herpès simplex 2 non détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour ce gène ou sa présence est inférieure à la limite de détection du produit.
VZV: DNA Not Detected or below LoD.	ADN du gène de virus varicella zoster non détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour ce gène ou sa présence est inférieure à la limite de détection du produit.
Invalid - Retest Sample.	Résultat du test non valide suite à une erreur du contrôle interne (mauvaise extraction ou la présence d'un inhibiteur).

Les échantillons non conformes pour l'analyse sont indiqués comme "Invalid - Retest Sample" par le logiciel du système ELITe InGenius. Dans ce cas, il n'a pas été possible de détecter efficacement l'ADN du contrôle interne car qu'il y a eu un problème au cours du cycle d'amplification ou durant la phase d'extraction (dégradation de l'ADN, une perte d'ADN lors de l'extraction ou la présence d'inhibiteurs dans l'extrait qui peuvent causer des résultats incorrects). L'échantillon doit être re-testé à partir d'une nouvelle extraction.

Lorsque le volume de l'échantillon extrait est suffisant, il peut faire l'objet d'un nouveau test à travers une amplification en mode cycle "PCR uniquement". En présence d'un deuxième résultat invalide, l'échantillon doit être re-testé à partir de l'extraction, en utilisant le mode cycle "Extraction + PCR".

Les échantillons utilisés dans lesquels il n'a pas été possible de détecter l'ADN des gènes des virus herpes simplex 1 et 2 et celui du virus de varicelle-zona sont signalés comme "Not Detected or below LoD". Dans ce cas, il est concevable que l'ADN des gènes de résistance soit présent à une concentration inférieure de la limite de détection du produit (voir «Caractéristiques de performance»).

Remarque: Les résultats obtenus avec ce dosage doivent être interprétés compte-tenu de toutes les données cliniques et des autres résultats des examens de laboratoire concernant le patient.

Les résultats du cycle de l'échantillon sont enregistrés dans la base de données et peuvent être visualisés et approuvés (Result Display) par le personnel qualifié comme "Administrateur" ou "Analyste", suivant les instructions GUI. A partir de la fenêtre "Result Display" il est possible d'imprimer et d'enregistrer l'échantillon exécuté comme "Sample Report" et "Track Report".

C. Élaboration du compte-rendu des résultats de l'échantillon

Les résultats de l'échantillon sont enregistrés dans la base de données et peuvent être visualisés comme "Sample Report" et "Track Report".

Le "Sample Report" montre les détails d'un cycle de l'échantillon sélectionné à travers le numéro de l'échantillon, par exemple du patient.

Le "Track Report" montre les détails d'une analyse pour une position définie.

Les "Sample Report" et "Track Report" peuvent être imprimés et signés par du personnel autorisé.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

Sensibilité analytique: Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du produit **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel** utilisé avec des échantillons de liquide céphalorachidien en association au système ELITe InGenius a été vérifiée en testant des dilutions en série de plasmides (spikés dans du liquide céphalorachidien négatif puis extraits et amplifiés pour imiter des échantillons réels) contenant la séquence cible pour chaque agent pathogène détecté par le dosage multiplex (80,000-40,000-20,000-10,000-5,000-2,500-1,250-625 copies/ml).

La limite de détection obtenue à partir des résultats de 10 essais répétés de chaque dilution a été définie comme la concentration correspondant à la dernière étape de dilution au cours de laquelle 100% des échantillons répétés fournissent un résultat positif. Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant:

Limite de détection avec échantillons de liquide céphalorachidien et ELITe InGenius® (copies / mL)	
Cible	LoD (copies / mL)
herpès simplex virus 1 (HSV1)	2.500
herpès simplex virus 2 (HSV2)	1.250
Virus varicelle-zona (VZV)	1.250

La sensibilité analytique a été analysée par régression linéaire. La régression linéaire a été calculée à partir de dilutions en série de plasmides, avec 100% de taux positif, pour calculer le coefficient de régression de R² et la pente. Les valeurs R² pour les trois agents pathogènes sont supérieures à 0,99, comme preuve de bonne linéarité dans cette gamme de dilution.

Répétabilité

La répétabilité, ou inexactitude intra-session, du test en association au système ELITe InGenius a été évaluée en effectuant 10 répétitions de deux concentrations (10xLoD et 3xLoD) d'un échantillon clinique caractérisé pour chaque cible, ensuite testées pour l'extraction et la PCR par le même opérateur, avec le même lot de réactifs, le même appareil et le même environnement.

Les résultats des tests ont montré une très bonne reproductibilité des résultats, avec un coefficient de variation (CV%) de moins de 1,5% pour chaque échantillon et pour chaque concentration (10xLoD et 3xLoD). Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant.

Répétabilité de Meningitis Viral ELITe MGB® Panel					
Echantillon	Concentration	Ct moyenne	σ	CV%	% positif
HSV1 échantillon1	10xLoD	30,2	0,3	1,0	100
HSV1 échantillon1	3xLoD	32,1	0,4	1,1	100
HSV2 échantillon2	10xLoD	31,3	0,3	1,0	100
HSV2 échantillon2	3xLoD	33,9	0,3	0,9	100
VZV échantillon3	10xLoD	30,3	0,3	1,1	100
VZV échantillon3	3xLoD	31,7	0,3	1,0	100

Reproductibilité

La reproductibilité en termes de variation entre les lots et entre les instruments avec le produit **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel**, en association au système ELITe InGenius, a été testée en utilisant les mêmes échantillons et les mêmes lots de réactifs provenant de différents opérateurs, à des moments différents, et avec des instruments et des laboratoires différents.

La précision a été exprimée sur la base de mesures statistiques de l'imprécision, comme la déviation standard. (σ) et le coefficient de variation (CV%). L'analyse des données a montré une grande reproductibilité des résultats avec des valeurs de CV% égal ou inférieure à 1,5%. Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant.

Reproductibilité de Meningitis Viral ELITe MGB® Panel					
Echantillon	Concentration	Ct moyenne	σ	CV%	% positif
HSV1 échantillon1	10xLoD	30,5	0,4	1,4	100
HSV1 échantillon1	3xLoD	32,3	0,4	1,3	100
HSV2 échantillon2	10xLoD	31,2	0,1	0,5	100
HSV2 échantillon2	3xLoD	33,2	0,2	0,6	100
VZV échantillon3	10xLoD	29,7	0,3	0,9	100
VZV échantillon3	3xLoD	31,7	0,4	1,3	100

Spécificité analytique du test et comparaison avec les panels de référence.

La spécificité du test en association au système ELITe InGenius, a été évaluée en effectuant une extraction et une PCR sur des panels QCMD (Qnostics Ltd, U.K.) d'herpès simplex virus 1 et 2 (HSVDNA16C1-2) et du virus varicelle-zona (VZVDNA16C1-2).

Tous les échantillons positifs ont été détectés correctement avec le produit **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel**.

L'échantillon VZVDNA16C1-02 a été détecté dans un répliquat sur deux avec une Ct de 36,9. Cet échantillon, selon les données déclarées pour ce groupe, a été détecté dans 37,8% des cas, sur le nombre total de tests effectués, suggérant que cet échantillon est faiblement positif.

Aucun des échantillons négatifs de panels HSVDNA16C1-2 et VZVDNA16C1-2 ont été identifiés comme positif avec le kit le **Meningitis Viral ELITE MGB® Panel**.

En outre, les cibles non spécifiques de panels QCMD testées (VZV pour le panel HSVDNA16C1-2 ou HSV1 et HSV2 pour le panel VZVDNA16C1-2) ont tous donné des résultats négatifs en association au système ELITe InGenius démontrant la bonne spécificité du test. Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant.

Échantillon	Description	Statut de l'échantillon	Valeur de Ct		
			HSV1	HSV2	VZV
HSVDNA16C1-01	Herpes Simplex Virus 2 (09-015681)	fréquemment détecté	neg	28,7	neg
HSVDNA16C1-02	Herpes Simplex Virus 1 (95/1906)	fréquemment détecté	31,1	neg	neg
HSVDNA16C1-03	HSV Negative	Négatif	neg	neg	neg
HSVDNA16C1-04	Herpes Simplex Virus 1 (MacIntyre)	fréquemment détecté	31,3	neg	neg
HSVDNA16C1-05	Herpes Simplex Virus 2 (09-015681)	détecté	neg	33,9	neg
HSVDNA16C2-01	Herpes Simplex Virus 1 (95/1906)	détecté	33,9	neg	neg
HSVDNA16C2-02	Herpes Simplex Virus 2 (09-015681)	fréquemment détecté	neg	30,1	neg
HSVDNA16C2-03	Herpes Simplex Virus 1 (95/1906)	fréquemment détecté	31,2	neg	neg
HSVDNA16C2-04	HSV Negative	négatif	neg	neg	neg
HSVDNA16C2-05	Herpes Simplex Virus 2 (MS)	détecté	neg	34,0	neg
VZVDNA16C1-01	VZV Negative	négatif	neg	neg	neg
VZVDNA16C1-02	Varicella-zoster virus (Ellen)	non fréquemment détecté	neg	neg	36,9 (1/2)
VZVDNA16C1-03	Varicella-zoster virus (63/1444)	fréquemment détecté	neg	neg	32,9
VZVDNA16C1-04	Varicella-zoster virus (Ellen)	fréquemment détecté	neg	neg	31,2
VZVDNA16C1-05	Varicella-zoster virus (9/84)	fréquemment détecté	neg	neg	29,5
VZVDNA16C2-01	Varicella-zoster virus (OKA)	fréquemment détecté	neg	neg	32,1
VZVDNA16C2-02	Varicella-zoster virus (9/84)	fréquemment détecté	neg	neg	29,6
VZVDNA16C2-03	Varicella-zoster virus (9/84)	fréquemment détecté	neg	neg	33,3
VZVDNA16C2-04	Varicella-zoster virus (Ellen)	fréquemment détecté	neg	neg	31,1
VZVDNA16C2-05	Varicella-zoster virus (Ellen)	détecté	neg	neg	33,8

Meningitis Viral ELITe MGB® Panel
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS507ING

La spécificité a été également évaluée en testant 80 échantillons cliniques contenant des bactéries, des parasites et des virus. Aucun agent pathogène, à l'exception de ceux attendus, n'a été détecté. Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant.

Pathogène (virus)	Résultat
Adenovirus	Négatif
Astrovirus	Négatif
Coronavirus 229	Négatif
Coronavirus 43	Négatif
Coronavirus 63	Négatif
Cytomegalovirus	Négatif
Enterovirus	Négatif
Epstein-Barr virus	Négatif
Herpès simplex virus 1	Positif
Herpès simplex virus 2	Positif
Human herpès virus 6	Négatif
Human herpès virus 7	Négatif
Human metapneumovirus	Négatif
Influenza A virus	Négatif
Influenza B virus	Négatif
Measles virus	Négatif
Mumps virus	Négatif
Norovirus G1	Négatif
Norovirus G2	Négatif
Parainfluenza 1	Négatif
Parainfluenza 2	Négatif
Parainfluenza 3	Négatif
Parainfluenza 4	Négatif
Parvovirus B19	Négatif
Polyomavirus 1 (BKV)	Négatif
Respiratory syncytial virus A	Négatif
Respiratory syncytial virus B	Négatif
Rhinovirus	Négatif
Rotavirus	Négatif
Sapovirus	Négatif
Varicella-zoster virus	Positif

Pathogène (bactéries et parasites)	Résultat	Pathogène (bactéries et parasites)	Résultat
<i>Aeromonas hydrophila</i>	négatif	<i>Legionella pneumophila</i>	négatif
<i>Bacillus ssp.</i>	négatif	<i>Legionella ansia</i>	négatif
<i>Bifidobacterium</i>	négatif	<i>Listeria monocytogenes</i>	négatif
<i>Bordetella pertussis</i>	négatif	<i>Moraxella catarrhalis</i>	négatif
<i>Campylobacter jejuni</i>	négatif	<i>Morganella morganii</i>	négatif
<i>Campylobacter coli</i>	négatif	<i>Mycoplasma genitalium</i>	négatif
<i>Chlamydia trachomatis</i>	négatif	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	négatif
<i>Citrobacter freundii</i>	négatif	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	négatif
<i>Clostridium difficile</i>	négatif	<i>Proteus mirabilis</i>	négatif
<i>Clostridium perfringens</i>	négatif	<i>Proteus vulgaris</i>	négatif
<i>EHEC vtx+</i>	négatif	<i>Rhodococcus equi</i>	négatif
<i>EIEC</i>	négatif	<i>Salmonella typhimurium</i>	négatif
<i>Enterococcus faecalis</i>	négatif	<i>Shigella boydii</i>	négatif
<i>EPEC</i>	négatif	<i>Staphylococcus aureus</i>	négatif
<i>ETEC</i>	négatif	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	négatif
<i>Haemophilus influenzae</i>	négatif	<i>Treponema pallidum</i>	négatif
<i>Hafnia alvei</i>	négatif	<i>Vibrio cholerae</i>	négatif
<i>Klebsiella oxytoca</i>	négatif	<i>Yersinia enterocolitica</i>	négatif
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	négatif		

Meningitis Viral ELITe MGB® Panel
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS507ING

Sensibilité diagnostique: confirmation des échantillons positifs

La sensibilité diagnostique du test, comme confirmation d'échantillons cliniques positifs, a été évaluée en analysant des échantillons rétrospectifs provenant de différents patients positifs, précédemment caractérisés par une méthode de référence.

En outre, il a été créé un panel d'échantillons positivisés en diluant les ADN cibles du matériel de référence positifs pour la cible en cours d'analyse dans différents échantillons de patients négatifs.

Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	Positif	Négatif	Invalide
CSF HSV1 positif	10	9	1	0
CSF positivisée HSV1	22	22	0	0
CSF HSV2 positif	10	10	0	0
CSF positivisée HSV2	20	20	0	0
CSF VZV positif	10	10	0	0
CSF positivisée VZV	20	20	0	0

L'échantillon discordant, qui avait une Ct proche de la limite de détection, peut être expliquée par la concentration très faible de virus dans l'échantillon testé, en-dessous de la limite de détection de la méthode; un tel échantillon pouvant être positif ou négatif.

Dans ce test, la sensibilité diagnostique de l'essai était égale à 96,9% pour HSV1 et 100% pour HSV2 et VZV.

Spécificité diagnostique: confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, ou la confirmation d'échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en utilisant plusieurs échantillons cliniques négatifs issus de donneurs négatifs précédemment caractérisés par une méthode de référence.

Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	Positif	Négatif	Invalide
LCR négatif pour HSV1, HSV2 et VZV	30	0	30	0

Dans ce test, la spécificité du test est égale à 100% pour HSV1, HSV2 et VZV.

Remarque: Les données et les résultats complets des essais effectués pour l'évaluation des caractéristiques des performances du produit avec les matrices et les instruments ont été enregistrés dans le Fascicule Technique de Produit "Meningitis Viral ELITe MGB® Panel", FTP RTS507ING.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser uniquement des échantillons cliniques suivants: liquide céphalorachidien.

Aucune donnée n'est disponible pour les phénomènes d'inhibition causés par des médicaments antiviraux, antibiotiques, chimiothérapie ou traitements immunosuppresseurs.

Les résultats obtenus avec ce produit dépendent de la bonne exécution de l'identification, de la collecte, du transport, de la conservation et de la préparation des échantillons. Les résultats obtenus avec ce produit sont également tributaires de l'utilisation correcte des produits associés. Afin d'éviter tout résultat erroné, il est essentiel d'apporter tout le soin possible et de suivre attentivement les instructions fournies avec les produits d'extraction des acides nucléiques.

Compte tenu de sa forte sensibilité analytique, l'amplification en temps réel des acides nucléiques utilisée dans ce test, est sujette à la contamination croisée par des échantillons cliniques positifs pour le cycle, par des contrôles positifs et par des produits de la même réaction d'amplification. Les contaminations croisées engendrent des résultats faux positifs. Le protocole du produit a été élaboré afin de limiter les contaminations; cependant, ces phénomènes ne peuvent être évités qu'avec une bonne pratique des techniques de laboratoire et le respect scrupuleux des consignes fournies dans cette notice.

Pour éviter tout accident pouvant avoir des conséquences graves pour l'utilisateur ou des tierces personnes, ce test doit être réalisé par un personnel compétent et formé à la manipulation d'échantillons biologiques (pouvant transmettre des agents infectieux) et de produits chimiques dangereux.

Pour éviter tout accident pouvant avoir des conséquences graves pour l'utilisateur ou des tierces personnes, le port de vêtements de travail et l'accès à des locaux adaptés à la manipulation d'échantillons biologiques (pouvant transmettre des agents infectieux) et des produits chimiques dangereux sont requis.

Afin d'éviter d'obtenir des résultats erronés, ce produit doit être manipulé par un personnel compétent et formé aux procédures de biologie moléculaire (extraction, amplification et détection d'acides nucléiques).

Les différentes technologies présentant des différences intrinsèques, il est conseillé de procéder à des études de corrélation pour estimer ces différences avant de passer à un nouveau produit.

Un résultat négatif obtenu avec ce produit indique que de l'ADN cible n'a pas été détecté. Il ne faut pas exclure que de l'ADN cible soit présent à un titre inférieur au seuil de détection du produit (voir Caractéristiques des performances); dans ce cas, le résultat serait un faux négatif.

Un résultat non valable obtenu avec ce produit indique qu'il n'a pas été possible de révéler efficacement l'ADN du Contrôle Interne ; dans ce cas, l'analyse de l'échantillon devra être répétée à partir de l'extraction avec d'éventuels retards dans l'obtention du résultat.

En cas de co-infection la sensibilité d'une cible peut être affectée par l'amplification d'une seconde cible.

Les polymorphismes éventuels de la région du génome viral dans lequel s'hybrident les oligonucléotides d'amorçage et la sonde du produit pourraient compromettre la détection et la quantification de l'ADN cible.

Comme tous les autres tests de diagnostic, les résultats obtenus avec ce produit doivent être interprétés en tenant compte de toutes les données cliniques et des autres examens de laboratoire du patient.

Comme tous les autres tests de diagnostic, ce produit présente un risque résiduel de résultats non valables, de faux positifs et de faux négatifs. Ce risque ne peut être ni diminué, ni supprimé. Dans certaines situations, ce risque peut contribuer à la prise de décisions erronées pouvant avoir des conséquences graves pour le patient.

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Réaction du Contrôle Positif non valable	
Causes éventuelles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'étape.	Vérifier la position du PCR Mix et du contrôle positif. Vérifier les volumes de PCR Mix et du contrôle positif.
Dénaturation du Contrôle Positif.	Utiliser un nouvel aliquot de contrôle positif.
Dénaturation du PCR Mix.	Utiliser un nouvel aliquot de PCR Mix.
Erreur de l'instrument.	Contactez l'assistance technique ELITechGroup S.p.A.

Réaction du Contrôle Négatif non valable	
Causes éventuelles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'étape.	Vérifier la position de PCR Mix et du contrôle négatif. Vérifier les volumes de PCR Mix et du contrôle négatif.
Contamination du Contrôle Négatif.	Utiliser un nouvel aliquot d'eau ultra-pure pour biologie moléculaire.
Contamination du Mix de PCR.	Utiliser un nouvel aliquot de PCR Mix.
Contamination de la zone d'extraction, des racks ou du bloc de la zone d'inventaire.	Nettoyer les surfaces à l'aide de détergents aqueux, laver les blouses et remplacer les tubes et les embouts utilisés.
Erreur de l'instrument.	Contactez l'assistance technique ELITechGroup S.p.A.

Réaction des échantillons non valable	
Causes éventuelles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'étape.	Vérifier la position du PCR Mix et de l'échantillon. Vérifier les volumes de PCR Mix et de l'échantillon.
Dénaturation du Mix de PCR.	Utiliser un nouvel aliquot de PCR Mix.
Inhibition provoquée par des substances interférant avec l'échantillon.	Répéter l'amplification en diluant l'échantillon 1 : 2 dans de l'eau ultra-pure pour biologie moléculaire, en sélectionnant l'étape "PCR only". Répéter l'extraction en diluant l'échantillon 1 : 2 dans l'eau ultra-pure pour biologie moléculaire, en sélectionnant l'étape "Extract + PCR".
Erreur de l'instrument.	Contactez l'assistance technique ELITechGroup S.p.A.

LÉGENDE DES SYMBOLES

REF

Référence du catalogue.



Seuil supérieur de température.

LOT

Numéro de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).

IVD

Diagnostic *in vitro*.



Conforme aux exigences essentielles de la Directive européenne 98/79/CE concernant le diagnostic *in vitro*.



Contenu suffisant pour "x" tests.



Attention, consulter le mode d'emploi.

CONT

Contenus.



Conserver à l'abri de la lumière solaire.



Fabricant.

NOTE POUR L'ACQUEREUR: LICENCE LIMITEE

Les réactifs de détection ELITE MGB® sont protégés aux Etats-Unis par un ou plusieurs brevets déposés sous les 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, par les brevets européens numéro 1068358, 1144429, 1232157, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939, ainsi que par les dépôts de brevets en cours d'homologation.

Cette licence limitée permet à la personne ou à l'entité légale ayant acquis ce produit de l'utiliser, ainsi que tous les résultats obtenus d'une telle utilisation, exclusivement dans le domaine de l'analyse médicale humaine. Ni ELITechGroup S.p.A. ni ses partenaires concédant des licences n'accordent expressément ou de façon implicite une licence pour d'autres utilisations.

"ELITE MGB®" et le logo "ELITE MGB®" sont des marques commerciales enregistrées pour l'Union européenne.

ELITE InGenius® est une marque enregistrée de ELITechGroup

TaqMan™ est une marque enregistrée de Roche Molecular Systems, Inc