




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

NOTICE of CHANGE dated 20/08/2024

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«Coagulation ELITe MGB[®] Kit» Ref. RTSD00ING

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

- *Update for compliance with the Regulation (EU) 2017/746 on in vitro diagnostic medical devices (IVDR) requirements and update of the Intended use, accordingly.*
- **NOTE:** *Composition and PERFORMANCE CHARACTERISTICS of the product remain unchanged.*
- **NOTE:** *The product lots reported into the table below are still placed on the market as per IVDD (98/79/EC) until expiration dates, according to Article 110 of IVDR. If you're using these product lots, the related IFU revision, NOT available anymore on the website, can be requested by contacting ELITechGroup staff.*

PRODUCT REF	Lot Number	Expiry date
RTSD00ING	U1123-091	31/08/2025
RTSD00ING	U0524-050	31/07/2025

PLEASE NOTE

	LA REVISIONE DI QUESTA IFU NON È COMPATIBILE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT
	THE REVISION OF THIS IFU IS NOT COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT
	LA RÉVISION DE CETTE IFU N'EST PAS COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRÉCÉDENTE DU KIT
	LA REVISIÓN DE ESTE IFU NO ES COMPATIBLE CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT
	A REVISÃO DO ESTE IFU NÃO É TAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT
	DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST NICHT KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS



Coagulation ELITE MGB® Kit
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTSD00ING

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

PRINCIPES DU TEST

Le test est une PCR qualitative en temps réel qui a été validée sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, d'amplification et de détection des acides nucléiques, et d'interprétation des résultats.

À partir de l'ADN génomique extrait des échantillons à tester, trois réactions d'amplification spécifiques pour les trois gènes humains codant pour les cibles d'intérêt et une réaction d'amplification spécifique pour le contrôle interne (vérification de l'adéquation de l'échantillon) sont effectuées dans la PCR Casette (Casette de PCR) :

- Facteur V, région du SNP G1691A (Leiden), détecté par une sonde spécifique marquée par le fluorophore AP639 dans le canal « **FV** » de l'instrument,
- Facteur II, région du SNP G20210A, détecté par une sonde spécifique marquée par le fluorophore FAM dans le canal « **FI** » de l'instrument,
- MTHFR, région du SNP C677T, détecté par une sonde spécifique marquée par le fluorophore AP593 dans le canal « **MTHFR** » de l'instrument.
- Contrôle interne, région du gène de la bêta-globine humaine, détecté par une sonde spécifique marquée par le fluorophore AP525 dans le canal « **IC** » de l'instrument.

Les sondes dotées de la technologie ELITE MGB® sont activées lorsqu'elles s'hybrident au produit spécifique de la réaction d'amplification. Les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** surveillent l'augmentation de la fluorescence et calculent les cycles seuils (Ct).

À la fin du cycle d'amplification, l'analyse de la courbe de fusion permet d'identifier les températures de fusion des sondes et de détecter la présence d'allèles de type sauvage et/ou mutés.

DESCRIPTION DU PRODUIT

Le produit **Coagulation ELITE MGB Kit** fournit le mélange **52M PCR Mix**, un mélange complet pour l'amplification en temps réel, **prêt à l'emploi** et **aliquoté dans huit tubes à essai**. Chaque tube contient **280 µL** de solution, un volume suffisant pour effectuer **12 tests** sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** (traitement d'au moins 2 échantillons par session d'analyse).

Le mélange **52M PCR Mix** contient les amorces et les sondes spécifiques suivantes :

- le gène du Facteur V de la coagulation, région du SNP G1691A (Leiden). La sonde est marquée par le fluorophore AP639, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par une molécule non fluorescente,
- le gène du Facteur II de la coagulation, région du SNP G20210A. La sonde est marquée par le fluorophore FAM, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par une molécule non fluorescente,
- pour le gène de la MTHFR, région du SNP C677T. La sonde est marquée par le fluorophore AP593, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par une molécule non fluorescente,
- l'IC, région du gène humain codant pour la bêta-globine. La sonde est marquée par le fluorophore AP525, stabilisée par le groupe MGB® et inactivée par le désactivateur non fluorescent.

Le mélange **52M PCR Mix** contient également un tampon, du chlorure de magnésium, des nucléotides triphosphates et l'enzyme ADN polymérase avec activation thermique (Hot start).

Le produit permet d'effectuer **96 tests** en association avec les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, en utilisant 20 µL par réaction.

Coagulation ELITE MGB® Kit

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

REF RTSD00ING

UDI 08033891486204



TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	page 1
PRINCIPES 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
ELITE InGenius	page 5
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	page 5
PROCÉDURE	page 6
ELITE BeGenius	page 13
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	page 13
PROCÉDURE	page 14
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE ELITE InGenius et ELITE BeGenius	page 18
BIBLIOGRAPHIE	page 26
LIMITES DE LA PROCÉDURE	page 26
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	page 27
LÉGENDE DES SYMBOLES	page 28
AVIS AUX UTILISATEURS	page 29
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	page 29
ANNEXE	page A

APPLICATION

Le produit **Coagulation ELITE MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test qualitatif de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la discrimination allélique des trois loci suivants dans des échantillons d'ADN génomique humain extraits d'échantillons cliniques :

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

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

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide à l'évaluation du risque de thrombose veineuse profonde chez les patients suspectés de présenter des troubles de la coagulation et à risque de thrombose veineuse profonde.

MATÉRIEL FOURNI

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
52M PCR Mix	Mélange réactionnel complet	8 x 280 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 cônes stériles à déplacement positif 0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Eau de qualité biologie moléculaire.

AUTRES PRODUITS REQUIS

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

Pour l'analyse automatique des échantillons avec le **ELITE InGenius** (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, réf. INT030) ou **ELITE BeGenius** (EG SpA, réf. INT040), les produits génériques suivants sont requis :

- cartouches d'extraction **ELITE InGenius® SP 200** (EG SpA, réf. INT032SP200),
- consommables pour l'extraction **ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set** (EG SpA, réf. INT032CS),
- **ELITE InGenius® Waste Box** (EG SpA, réf. F2102-000),
- **ELITE InGenius® PCR Cassette** (EG SpA, réf. INT035PCR),
- **300 µL Filter Tips Axygen** (Corning Life Science, réf. TF-350-L-R-S), pour le **ELITE InGenius**,
- **1000 µL Filter Tips Tecan** (Tecan, réf. 30180118) pour le **ELITE BeGenius**.

Pour l'extraction automatique des acides nucléiques, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats des échantillons avec l'instrument **ELITE InGenius**, les protocoles de test (Assay Protocols) spécifiques suivants sont requis :

- paramètres pour l'amplification du contrôle positif **52M ELITE_PC**,
- paramètres pour l'amplification du contrôle négatif **52M ELITE_NC**,
- paramètres pour les échantillons à analyser **52M ELITE_WB_200_200**.

Pour l'extraction automatique des acides nucléiques, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats des échantillons avec l'instrument **ELITE BeGenius**, les protocoles de test (Assay Protocols) spécifiques suivants sont requis :

- paramètres pour l'amplification du contrôle positif **52M ELITE_Be_PC**,
- paramètres pour l'amplification du contrôle négatif **52M ELITE_Be_NC**,
- paramètres pour les échantillons à analyser **52M ELITE_Be_WB_200_200**.

À titre de matrice d'amplification du contrôle positif, le produit spécifique **Coagulation - ELITE Positive Control** (EG SpA, réf. CTRD00ING) est requis. Il s'agit d'une solution stabilisée contenant des ADN plasmidiques.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Ce produit est exclusivement 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 % (eau de Javel) ou autoclavé pendant une (1) heure à 121 °C avant d'être mis au rebut. Éviter tout contact des réactifs d'extraction avec l'hypochlorite de sodium (eau de Javel).

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

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

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

Lire attentivement toutes les instructions 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 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 être utilisées avec des cônes dotés d'un filtre pour les aérosols. Les cônes utilisés doivent être stériles, exempts de DNases et de RNases, et exempts d'ADN et d'ARN.

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

Les produits d'extraction doivent être manipulés de manière à réduire la dispersion dans l'environnement afin d'éviter tout risque de contamination. Les pipettes utilisées pour la manipulation des produits d'extraction doivent être exclusivement utilisées à cette fin.

Les PCR Cassettes (Cassettes de PCR) doivent être manipulées de sorte à réduire au maximum la diffusion des produits d'amplification dans l'environnement, afin d'éviter toute contamination des échantillons et des réactifs.

Coagulation ELITE MGB® Kit
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTSD00ING

Avertissements et précautions spécifiques pour les composants :

Le **52M PCR Mix** doit être conservé à -20 °C ou à une température plus basse et à l'abri de la lumière.

Le **52M PCR Mix** doit être utilisé dans le mois qui suit sa première ouverture.

Le **52M PCR Mix** peut être congelé et décongelé **sept fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risqueraient d'entraîner une réduction des performances du produit.

Le **52M PCR Mix** peut être conservé dans le bloc de refroidissement de la Inventory Area (Zone inventaire) du ELITE InGenius ou dans l'unité de refroidissement du ELITE BeGenius pendant un maximum de **sept sessions d'analyse distinctes de trois heures chacune** (mode « Extract + PCR » [Extraction + PCR]), ou pendant 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune (mode « Extract + PCR » [Extraction + PCR]), et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse (7 heures au total). Mélanger délicatement puis centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

ELITE InGenius

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

Ce produit doit être utilisé avec des échantillons de sang total prélevé sur EDTA.

Les échantillons de sang total pour l'extraction de l'ADN doivent être prélevés sur de l'EDTA et être identifiés conformément aux directives de laboratoire. Ils doivent être transportés entre +2 et +8 °C et conservés entre +2 et +8 °C pendant trois jours au maximum. Sinon, ils doivent être congelés et conservés à -20 °C ou à -70 °C ou à une température plus basse pendant trente jours au maximum. Même si des périodes de conservation plus longues à -70 °C ou à une température plus basse sont possibles, tel que largement rapporté dans la littérature scientifique, leur application doit être évaluée en interne par l'utilisateur final de ce produit.

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'ADN à partir des échantillons de sang total est effectuée à l'aide du ELITE InGenius et du ELITE InGenius Software version 1.2 (ou versions ultérieures équivalentes), utiliser le protocole de test (Assay Protocol) **52M ELITE_WB_200_200**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µL d'échantillon et l'éluion des acides nucléiques dans 200 µL. Lorsqu'un tube primaire (13 x 7,5 mm) est utilisé, le volume d'échantillon doit être au minimum de 2,2 mL.

Autres échantillons

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

Substances interférentes

Les données disponibles relatives à l'inhibition provoquée par les médicaments et d'autres substances sont fournies au paragraphe « Substances interférentes » du chapitre « Caractéristiques de performance ».

Contrôles d'amplification

Avant d'analyser un échantillon, il est absolument indispensable de générer et d'approuver les contrôles d'amplification pour le lot de réactifs d'amplification qui sera utilisé pendant le test :

- à titre de Contrôle positif d'amplification, utiliser le produit **Coagulation - ELITE Positive Control** (non inclus dans ce kit) en association avec le protocole **52M ELITE_PC**,
- à titre Contrôle négatif d'amplification, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) en association avec le protocole **52M ELITE_NC**.

Coagulation ELITE MGB® Kit
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTSD00ING

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

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

- 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

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

PROCÉDURE

L'utilisation du **Coagulation ELITE MGB Kit** avec le **ELITE InGenius** comprend trois étapes :

- Vérification de la préparation du système,
- Paramétrage de la session d'analyse,
- Examen et approbation des résultats.

Vérification de la préparation du système

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

- mettre le **ELITE InGenius** en marche et sélectionner le mode de connexion « **CLOSED** » (FERMÉ),
- vérifier que les contrôles d'amplification (52M Positive Control, 52M Negative Control) ont été analysés en association avec le lot de réactifs d'amplification à utiliser, et qu'ils sont approuvés et valides (Status [Statut]). 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 (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et l'utilisation des protocoles de test (Assay Protocols) fournis par EG SpA. Ces protocoles de DIV ont été spécifiquement validés avec les kits ELITE MGB, l'instrument **ELITE InGenius** et la matrice indiquée.

Le protocole de test disponible pour tester des échantillons à l'aide du produit **Coagulation ELITE MGB Kit** est décrit dans le tableau ci-dessous.

Protocole de test pour le Coagulation ELITE MGB Kit			
Nom	Matrice	Rapport	Caractéristiques
52M ELITE_WB_200_200	Sang total	Type sauvage/ hétérozygote/ homozygote	Volume d'extraction initial : 200 µL Volume d'éluion extrait : 200 µL Contrôle Interne : NON Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de l'échantillon PCR : 20 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 d'analyse

Le produit **Coagulation ELITE MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITE InGenius** pour les opérations suivantes :

- Analyse intégrée (« Extract + PCR » [Extraction + PCR]),
- Analyse d'amplification (« PCR Only » [PCR uniquement]),
- Analyse d'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif (« PCR Only » [PCR uniquement]).

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

Remarque : le **ELITE InGenius** peut être connecté au « Location Information Server » (Serveur d'informations de localisation - SIL) qui permet de charger les informations relatives à la session d'analyse. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument **ELITE InGenius** pour plus de détails.

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

A. Analyse intégrée

Pour paramétrer une analyse intégrée, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par l'interface graphique utilisateur (GUI) :

- Décongeler les échantillons à température ambiante (+21 ± 5 °C) et les manipuler conformément aux directives du laboratoire et à la section « Échantillons et contrôles ».
- Décongeler les tubes de **52M PCR Mix** à température ambiante (+21 ± 5 °C) pendant 30 minutes pour la session d'analyse. Chaque tube permet d'effectuer 12 réactions dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.

Remarque : garder le **52M PCR Mix** à l'abri de la lumière lors de la décongélation car ce réactif est photosensible.

- Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
- Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution extrait) est de 200 µL.
- Pour chaque Track (Position) d'intérêt, renseigner le « SampleID » (SID) (ID échantillon) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
- Sélectionner le protocole de test (Assay Protocol) à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (c'est-à-dire 52M ELITE_WB_200_200).
- Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
- Sélectionner la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position de l'échantillon) :
 - si un tube primaire est utilisé, sélectionner « Primary Tube » (Tube primaire) ;
 - si un tube secondaire est utilisé, sélectionner « Extraction Tube » (Tube d'extraction).Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger le **52M PCR Mix** sur le « Inventory Block » (Bloc inventaire) sélectionné en suivant les instructions de la GUI et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **52M PCR Mix**. Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger les « **PCR Cassettes** » (Cassettes de PCR), les cartouches d'extraction « **ELITE InGenius SP 200** », tous les consommables requis et les échantillons à extraire en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Fermer le tiroir de l'instrument.
- Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

Au terme de la session d'analyse, le **ELITE InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le « Elution tube » (Tube d'élution) doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 °C ou à une température plus basse pendant un mois. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

Remarque : à la fin de l'analyse, la « **PCR Cassette** » (Cassette de PCR) contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et éliminés en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le PCR Mix peut être utilisé pour 7 sessions de travail indépendantes de 3 heures chacune ou peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune (mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR), et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse (7 heures au total). Mélanger délicatement puis centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

B. Analyse d'amplification

Pour paramétrer l'analyse d'amplification à partir d'ADN extrait, suivre les étapes ci-dessous tout en se reportant à la GUI :

- Décongeler les tubes de **52M PCR Mix** à température ambiante (+21 ± 5 °C) pendant 30 minutes pour la session d'analyse. Chaque tube permet d'effectuer 12 réactions dans des conditions optimales de consommation de réactif (au moins 2 tests par session d'analyse). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.

Remarque : garder le **52M PCR Mix** à l'abri de la lumière lors de la décongélation car ce réactif est photosensible.

- Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
- Même si aucune extraction ne sera effectuée, vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution extrait) est de 200 µL.
- Pour chaque Track (Position) d'intérêt, renseigner le « SampleID » (SID) (ID échantillon) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
- Sélectionner le protocole de test (Assay Protocol) à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (c'est-à-dire 52M ELITE_WB_200_200).
- Sélectionner « PCR Only » (PCR uniquement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).
- Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillon) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'élution [ligne inférieure]). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger le **52M PCR Mix** sur le « Inventory Block » (Bloc inventaire) sélectionné en suivant les instructions de la GUI et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **52M PCR Mix**. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Charger la « **PCR Cassette** » (Cassette de PCR) et les échantillons d'acide nucléique extraits en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Fermer le tiroir de l'instrument.
- Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

Au terme de la session d'analyse, le **ELITE InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

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

Remarque : à la fin de l'analyse, la « **PCR Cassette** » (Cassette de PCR) contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et éliminés en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le PCR Mix peut être utilisé pour 7 sessions de travail indépendantes de 3 heures chacune ou peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune (mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR), et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse (7 heures au total). Mélanger délicatement puis centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

C. Analyse d'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif

Pour paramétrer l'analyse d'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler les tubes de **52M PCR Mix** à température ambiante (+21 ± 5 °C) pendant 30 minutes pour la session d'analyse. Chaque tube permet de préparer 12 réactions dans des conditions optimales de consommation de réactif (au moins 2 tests par session d'analyse). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.

Remarque : décongeler le **52M PCR Mix** dans l'obscurité, car ce réactif est photosensible.

2. Décongeler le tube de **52M Positive Control** pour la session d'analyse. Chaque tube permet d'effectuer 4 sessions d'analyse. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
3. Transférer au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'éluion) inclus dans le « ELITE InGenius® SP 200 Consumable Set ».
4. Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
5. Dans la Track (Position) d'intérêt, sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Test).
6. Pour le contrôle positif, sélectionner le protocole de test 52M ELITE_PC dans la colonne « Assay » (Test) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du 52M Positive Control.
7. Pour le contrôle négatif, sélectionner le protocole de test 52M ELITE_NC dans la colonne « Assay » (Test) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption de l'eau de qualité biologie moléculaire.
8. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger le **52M PCR Mix** sur le « Inventory Block » (Bloc inventaire) sélectionné en suivant les instructions de la GUI et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du **52M PCR Mix**. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
11. Charger les « **PCR Cassettes** » (Cassettes de PCR), le tube « **52M Positive Control** » et le tube du contrôle négatif en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
12. Fermer le tiroir de l'instrument.
13. Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

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

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

Remarque : à la fin de l'analyse, la « **PCR Cassette** » (Cassette de PCR) contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et éliminés en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le PCR Mix peut être utilisé pour 7 sessions de travail indépendantes de 3 heures chacune ou peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune (mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR), et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse (7 heures au total). Mélanger délicatement puis centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

Examen et approbation des résultats

À la fin de l'analyse, l'écran « Results Display » (Affichage des résultats) 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 (« Sample Report » [Rapport échantillons] ou « Track Report » [Rapport des positions]). Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument **ELITE InGenius** pour plus de détails.

Remarque : le ELITE InGenius peut être connecté au « Location Information Server » (Serveur d'informations de localisation - SIL) qui permet d'envoyer les résultats de la session d'analyse au centre de données du laboratoire. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument **ELITE InGenius** pour plus de détails.

Le ELITE InGenius génère les résultats à l'aide du produit **Coagulation ELITE MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

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

A. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif d'amplification

Les signaux de fluorescence émis par les sondes des trois gènes (canaux **FV**, **FII**, **MTHFR**) et pour l'IC (canal **IC**) dans la réaction d'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel **ELITE InGenius** avec les paramètres inclus dans les protocoles de test « 52M ELITE_PC » et « 52M ELITE_NC ».

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

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

Avant d'analyser un échantillon, il est indispensable de vérifier que les résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif sont approuvés et valides pour le lot de réactifs de PCR. Le statut des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif pour chaque lot de réactifs de PCR est affiché dans le module « Controls » (Contrôles). Si les résultats du Contrôle positif et/ou du Contrôle négatif sont manquants ou ont expiré, analyser le(s) contrôle(s) comme décrit ci-dessus.

Le **ELITE InGenius software** traite les résultats du contrôle positif et du contrôle négatif et génère des Control Charts (Graphiques de contrôle). Quatre résultats de Contrôle positif et de Contrôle négatif approuvés sont utilisés pour configurer le graphique de contrôle initial. Pour les contrôles ultérieurs, les résultats sont analysés par le logiciel pour s'assurer que les performances du système sont conformes aux critères d'acceptation, indiqués dans les tracés du graphique de contrôle. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

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

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

B. Validation des résultats de l'échantillon

Les signaux de fluorescence émis par les sondes des trois gènes (canaux **FV**, **FII**, **MTHFR**) et pour l'IC (canal **IC**) dans les réactions d'amplification des échantillons sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument avec les paramètres inclus dans le protocole de test.

Le **ELITE InGenius software** interprète les résultats de la PCR pour les trois gènes (canaux **FV**, **FII**, **MTHFR**) et la sonde du contrôle interne (canal **IC**) avec les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) 52M ELITE_WB_200_200.

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

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

1) Contrôle positif	Statut
52M Positive Control	APPROUVÉ
2) Contrôle négatif	Statut
52M Negative Control	APPROUVÉ

Les résultats des échantillons sont automatiquement interprétés par le logiciel ELITE InGenius en utilisant les paramètres du protocole de test. Les messages de résultat possibles sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

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

Les messages des résultats possibles d'un échantillon sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
FV: Wildtype for Factor V (FV : type sauvage pour le Facteur V)	L'échantillon possède un génotype de type sauvage pour le locus du SNP G1691A du Facteur V.
FV: Heterozygous for Factor V Leiden (FV : hétérozygote pour le Facteur V Leiden)	L'échantillon possède un génotype hétérozygote muté (Leiden) pour le locus du SNP G1691A du Facteur V.
FV: Homozygous for Factor V Leiden (FV : homozygote pour le Facteur V Leiden)	L'échantillon possède un génotype homozygote muté (Leiden) pour le locus du SNP G1691A du Facteur V.
FII: Wildtype for Factor II (FII : type sauvage pour le Facteur II)	L'échantillon possède un génotype de type sauvage pour le locus du SNP G20210A du Facteur II.
FII: Heterozygous for Factor II 20210A (FII : hétérozygote pour le Facteur II 20210A)	L'échantillon possède un génotype hétérozygote muté (20210A) pour le locus du SNP G20210A du Facteur II.
FII: Homozygous for Factor II 20210A (FII : homozygote pour le Facteur II 20210A)	L'échantillon possède un génotype homozygote muté (20210A) pour le locus du SNP G20210A du Facteur II.
MTHFR: Wildtype for MTHFR (MTHFR : type sauvage pour MTHFR)	L'échantillon possède un génotype de type sauvage pour le locus du SNP C677T de la MTHFR.
MTHFR: Heterozygous for MTHFR 677T (MTHFR : hétérozygote pour la MTHFR 677T)	L'échantillon possède un génotype hétérozygote muté (677T) pour le locus du SNP C677T de la MTHFR.
MTHFR: Homozygous for MTHFR 677T (MTHFR : homozygote pour la MTHFR 677T)	L'échantillon possède un génotype homozygote muté (677T) pour le locus du SNP C677T de la MTHFR.
IC: Valid Sample (IC : échantillon valide)	L'échantillon possède une valeur Ct pour l'IC inférieure à 26,5 ; il est donc valide
Inconclusive - Retest Sample (Non concluant - Tester à nouveau l'échantillon)	Résultat du test non concluant en raison d'un problème avec l'échantillon.
Invalid - Retest Sample (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon)	Résultat du test non valide en raison d'un problème (extraction incorrecte ou contamination par des inhibiteurs).

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

Les échantillons non appropriés pour l'interprétation des résultats sont rapportés comme « Invalid - Retest Sample » (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon) par le logiciel **ELITE InGenius**. Dans ce cas, l'ADN génomique humain de l'échantillon n'a pas été efficacement détecté en raison de problèmes lors de l'étape d'amplification ou d'extraction (dégradation d'ADN, perte d'ADN pendant l'extraction, contamination par des inhibiteurs dans l'éluat ou quantité d'ADN insuffisante dans l'échantillon), 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 Only » (PCR uniquement). 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 « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

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.

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

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

C. Rapport des résultats de l'échantillon

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

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

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

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

ELITE BeGenius

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

Ce produit doit être utilisé avec des échantillons de sang total prélevé sur EDTA.

Les échantillons de sang total pour l'extraction de l'ADN doivent être prélevés sur de l'EDTA et être identifiés conformément aux directives de laboratoire. Ils doivent être transportés entre +2 et +8 °C et conservés entre +2 et +8 °C pendant trois jours au maximum. Sinon, ils doivent être congelés et conservés à -20 °C ou à -70 °C ou à une température plus basse pendant trente jours au maximum. Même si des périodes de conservation plus longues à -70 °C ou à une température plus basse sont possibles, tel que largement rapporté dans la littérature scientifique, leur application doit être évaluée en interne par l'utilisateur final de ce produit.

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'ADN à partir des échantillons de sang total est effectuée à l'aide du ELITE BeGenius et du ELITE BeGenius Software version 2.1.0 (ou versions ultérieures équivalentes), utiliser le protocole de test (Assay Protocol) **52M ELITE_Be_WB_200_200**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µL d'échantillon et l'éluion des acides nucléiques dans 200 µL. Lorsqu'un tube primaire (13 x 75 mm, 13 x 100 mm ou 16 x 100 mm) est utilisé, le volume d'échantillon doit être au minimum de 1,5 mL.

Autres échantillons

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

Substances interférentes

Les données disponibles relatives à l'inhibition provoquée par les médicaments et d'autres substances sont fournies au paragraphe « Substances interférentes » du chapitre « Caractéristiques de performance ».

Contrôles d'amplification

Avant d'analyser un échantillon, il est absolument indispensable de générer et d'approuver les contrôles d'amplification pour le lot de réactifs d'amplification qui sera utilisé pendant le test :

- à titre de contrôle positif d'amplification, utiliser le produit **Coagulation - ELITE Positive Control** (non inclus dans ce kit) en association avec le protocole **52M ELITE_Be_PC**,
- à titre de contrôle négatif d'amplification, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) en association avec le protocole **52M ELITE_Be_NC**.

Remarque : l'instrument ELITE BeGenius exige que les résultats des contrôles d'amplification soient approuvés et valides pour chaque lot de réactif d'amplification stocké dans sa base de données.

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 du réactif d'amplification.

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

- 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 BeGenius subit une procédure de maintenance majeure.

Contrôles de qualité

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

PROCÉDURE

L'utilisation du **Coagulation ELITE MGB Kit** avec le **ELITE BeGenius** comprend trois étapes :

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

Vérification de la préparation du système

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

- mettre le **ELITE BeGenius** en marche et sélectionner le mode de connexion « **CLOSED** » (FERMÉ) ;
- vérifier que les contrôles d'amplification (52M Positive Control, 52M Negative Control) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **52 M PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle d'amplification valide n'est disponible pour le lot de **52 M PCR Mix**, analyser les contrôles d'amplification comme décrit ci-dessous,
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et en utilisant les protocoles de test fournis par ELITechGroup S.p.A. Ces protocoles de DIV ont été spécifiquement validés avec les ELITE MGB Kits, l'instrument **ELITE BeGenius** et la matrice indiquée.
- Le protocole de test disponible pour tester des échantillons à l'aide du produit **Coagulation ELITE MGB Kit** est décrit dans le tableau ci-dessous :

Protocole de test pour le Coagulation ELITE MGB Kit			
Nom	Matrice	Rapport	Caractéristiques
52M ELITE_Be_WB_200_200	Sang total	Type sauvage/ hétérozygote/ homozygote	Volume d'extraction initial : 200 µL Volume d'éluion extrait : 200 µL Contrôle Interne : NON Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de l'échantillon PCR : 20 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 d'analyse

Le **Coagulation ELITE MGB Kit**, en association avec le **ELITE BeGenius**, peut être utilisé afin d'effectuer les opérations suivantes :

- Analyse intégrée (« Extract + PCR » [Extraction + PCR]),
- Analyse d'amplification (« PCR Only » [PCR uniquement]),
- Analyse d'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif (« PCR Only » [PCR uniquement]).

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

Remarque : l'instrument ELITE BeGenius peut être connecté au « Location Information Server » (Serveur d'informations de localisation - SIL) par lequel il est possible d'envoyer les informations relatives à la session de travail. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument **ELITE BeGenius** pour plus de détails.

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

A. Analyse intégrée

Pour paramétrer une analyse intégrée avec une extraction et une amplification d'échantillon, suivre les étapes ci-dessous tout en se reportant à la GUI :

1. Décongeler les échantillons à température ambiante ($+21 \pm 5$ °C) et les manipuler conformément aux directives du laboratoire et à la section « Échantillons et contrôles ».
2. Décongeler les tubes de **52M PCR Mix** nécessaires à température ambiante ($+21 \pm 5$ °C) pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer 12 réactions dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes.

Remarque : garder le **52M PCR Mix** à l'abri de la lumière lors de la décongélation car ce réactif est photosensible.

3. Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
4. Retirer les portoirs de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement) et les placer sur la table de préparation.
5. Sélectionner le « run mode » (mode d'analyse) : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
6. Charger les échantillons dans les portoirs 5 et 4 (toujours commencer par le portoir 5), en utilisant les adaptateurs pour garantir une mise en place correcte si nécessaire.
7. Insérer le portoir dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

Remarque : si des tubes secondaires sont chargés, les marquer « Tube de 2 mL ». Si les tubes secondaires ne portent pas de codes-barres, saisir manuellement l'ID de l'échantillon.

8. Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 200 µL et que le « Extraction Elution Volume » (Volume d'élution extrait) est de 200 µL.
9. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (c'est-à-dire 52M ELITE_Be_WB_200_200). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
10. Si le portoir 4 est utilisé, répéter les étapes 7 à 9.
11. Charger les tubes d'élution dans les portoirs 3 et 2 (toujours commencer par le portoir 3).

Remarque : les tubes d'élution peuvent être étiquetés pour améliorer la traçabilité.

12. Insérer le portoir dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13. Si le portoir 2 est utilisé, répéter l'étape 12.
14. Charger le **52M-PCR Mix** dans le portoir 1.
15. Insérer le portoir 1 dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
16. Vérifier les cônes dans les portoirs de cônes de la « Inventory Area » (Zone inventaire) et remplacer le(s) portoir(s) de cônes si nécessaire. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
17. Charger le panier avec la **PCR Cassette** (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
18. Charger le panier avec les cartouches d'extraction **ELITE InGenius SP 200** et les consommables d'extraction requis en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
19. Fermer le tiroir de l'instrument.
20. Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

Lorsque la session d'analyse est terminée, le **ELITE BeGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats et d'imprimer et d'enregistrer le rapport.

Remarque : à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le « Elution tube » (Tube d'élution) doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 °C ou à une température plus basse.

Remarque : à la fin de l'analyse, la « **PCR Cassette** » (Cassette de PCR) contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et éliminés en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le PCR Mix peut être utilisé pour 7 sessions de travail indépendantes de 3 heures chacune ou peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune (mode « Extract + PCR ») (Extraction + PCR), et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

B. Analyse d'amplification

Pour paramétrer l'analyse d'amplification à partir d'ADN extrait, suivre les étapes ci-dessous tout en se reportant à la GUI :

1. Si nécessaire, décongeler les échantillons élués à température ambiante ($+21 \pm 5$ °C). Mélanger délicatement puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes.

1. Décongeler les tubes de **52M PCR Mix** nécessaires à température ambiante ($+21 \pm 5$ °C) pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer 24 réactions dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu pendant 5 secondes.

Remarque : garder le **52M PCR Mix** à l'abri de la lumière lors de la décongélation car ce réactif est photosensible.

2. Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
3. Retirer les portoirs 1, 2 et 3 de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement) et les placer sur la table de préparation.
4. Sélectionner le mode d'analyse : « PCR Only » (PCR uniquement).
5. Charger les échantillons dans les portoirs 3 et 2 (toujours commencer par le portoir 3).
6. Insérer le portoir dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
7. Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 200 µL et que le « Extraction Elution Volume » (Volume d'élution extrait) est de 200 µL, même si aucune extraction n'est réalisée.
8. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (par ex. 52M ELITE_Be_WB_200_200). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9. Si le portoir 2 est utilisé, répéter les étapes 7 à 9.
10. Charger le **52M PCR Mix** dans le portoir 1.
11. Insérer le portoir dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
12. Vérifier les cônes dans les portoirs de cônes de la « Inventory Area » (Zone inventaire) et remplacer le(s) portoir(s) de cônes si nécessaire. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
13. Charger le panier avec la **PCR Cassette** (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
14. Fermer le tiroir de l'instrument.
15. Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

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

Remarque : à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à environ -20 °C ou à une température plus basse. Éviter tout déversement de l'échantillon extrait.

Coagulation ELITe MGB® Kit
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTSD00ING

Remarque : à la fin de l'analyse, la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) contenant les produits de réaction doit être retirée de l'instrument et éliminée en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Remarque : le PCR Mix peut être utilisé pour 7 sessions de travail indépendantes de 3 heures chacune ou peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune (mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR), et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

C. Analyse d'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif

Pour paramétrer l'analyse d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif, suivre les étapes ci-dessous tout en se reportant à la GUI :

- Décongeler les tubes de **52M PCR Mix** nécessaires à température ambiante (+21 ± 5 °C) pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer 12 réactions dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes.

Remarque : garder le **52M PCR Mix** à l'abri de la lumière lors de la décongélation car ce réactif est photosensible.

- Décongeler les tubes de **52M Positive Control** à température ambiante (+21 ± 5 °C) pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer 4 réactions. Mélanger délicatement puis centrifuger le contenu pendant 5 secondes.
- Transférer ≥ 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire (à titre de contrôle négatif) dans un « Elution tube » (Tube d'éluion) fourni dans le kit de consommables **ELITe InGenius SP Consumable Set**.
- Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
- Retirer les portoirs 1, 2 et 3 de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement) et les placer sur la table de préparation.
- Sélectionner le mode d'analyse : « PCR Only » (PCR uniquement).
- Charger les tubes du Contrôle positif et du Contrôle négatif dans les portoirs 3.
- Insérer le portoir dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
- Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (52M ELITe_Be_PC et 52M ELITe_Be_NC). Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre.
- Charger le **52M PCR Mix** dans le portoir 2.
- Insérer le portoir 2 dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
- Vérifier les cônes dans les portoirs de cônes de la « Inventory Area » (Zone inventaire) et remplacer le(s) portoir(s) de cônes si nécessaire. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
- Charger le panier avec la **PCR Cassette** (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone inventaire) en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
- Fermer le tiroir de l'instrument.
- Appuyer sur « Start » (Démarrer) pour lancer l'analyse.

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

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

Remarque : à la fin de l'analyse, les « PCR Cassettes » (Cassettes de PCR) contenant les produits de réaction doivent être retirées de l'instrument et mises au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

Coagulation ELITe MGB® Kit
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTSD00ING

Remarque : le PCR Mix peut être utilisé pour 7 sessions de travail indépendantes de 3 heures chacune ou peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune (mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR), et pendant la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse (7 heures au total). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

Examen et approbation des résultats

À la fin de l'analyse, l'écran « Results Display » (Affichage des résultats) 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 (« Sample Report » [Rapport échantillons] ou « Track Report » [Rapport des positions]).

Le ELITe BeGenius génère les résultats à l'aide du produit **Coagulation ELITe MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

- Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif d'amplification,
- Validation des résultats de l'échantillon,
- Rapport des résultats de l'échantillon.

Remarque : pour connaître les détails pour ce système, se reporter aux sections correspondantes relatives au **ELITe InGenius**.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE DES SYSTÈMES ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Efficacité de détection (inclusivité)

L'efficacité de détection des gènes du Facteur V, Facteur II et de la MTHFR a été évaluée en comparant des séquences avec une base de données de nucléotides.

L'analyse des régions choisies pour l'hybridation des amorces dans l'alignement des séquences disponibles dans la base de données a montré leur conservation et une absence de mutations significatives.

Les sondes fluorescentes permettent de détecter les allèles des gènes du Facteur V, du Facteur II et de la MTHFR indiqués dans le tableau suivant. Les limites des intervalles de Tm associés pour le **ELITe InGenius** ont été calculées avec les données obtenues dans les études de vérification et de validation et les plages de Tm utilisées sont indiquées dans le tableau suivant. Les intervalles de Tm pour le **ELITe BeGenius** ont été calculés en analysant les données obtenues dans l'étude de vérification associée à l'extension d'utilisation du produit sur le **ELITe BeGenius**.

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

Sensibilité analytique :

La sensibilité analytique du Coagulation ELITE MGB Kit a été définie sur le **ELITE InGenius** (mode « PCR Only » [PCR uniquement]) et a été vérifiée sur le **ELITE BeGenius** (mode « PCR Only » [PCR uniquement]).

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

La sensibilité analytique a été vérifiée en utilisant des panels d'ADN génomique humain certifiés pour le Facteur V et le Facteur II (Réactif de référence de l'OMS pour le Facteur V Leiden, ADNg humain, 1^{er} panel de référence génétique international, NIBSC, Royaume-Uni, code 04/224, et Réactif de référence pour la mutation G20210A de la prothrombine, ADNg humain, 1^{er} panel de référence génétique international, NIBSC, Royaume-Uni, code 05/130).

Les trois échantillons (type sauvage, hétérozygote et homozygote) de chaque panel ont été testés en 4 réplicats à environ 70 ng par réaction afin d'effectuer la procédure d'amplification et de détection avec le produit et les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**. Tous les réplicats se sont avérés être valides et ont été correctement déterminés.

Spécificité analytique

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

Un échantillon simulé contenant environ 80 000 copies d'ADN plasmidique a été utilisé en 24 réplicats afin d'effectuer la procédure d'amplification et de détection avec le produit et le **ELITE InGenius**. Tous les réplicats ont été correctement déterminés : aucun échantillon muté pour le SNP C20209T du Facteur II n'a généré de résultat hétérozygote ou homozygote muté pour le SNP G20210A du Facteur II.

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

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

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

Des échantillons simulés contenant environ 80 000 copies d'ADN plasmidique ont été utilisés en 6 réplicats afin d'effectuer la procédure d'amplification et de détection avec le produit et le **ELITE InGenius**. Les réplicats ont généré un résultat « Inconclusive » (Non concluant) ou ont été correctement déterminés. Aucun échantillon muté pour les SNP rares analysés n'a généré de résultat hétérozygote ou homozygote muté pour les SNP d'intérêt.

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

Organismes potentiellement interférents : réactivité croisée

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

L'analyse de la région amplifiée des séquences du produit a montré une absence d'homologies significatives. En conséquence, on ne s'attend à aucune réactivité croisée par des organismes potentiellement interférents.

Organismes potentiellement interférents : inhibition

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

L'analyse de la région amplifiée des séquences du produit a montré une absence d'homologies significatives. En conséquence, on ne s'attend à aucune inhibition par des organismes potentiellement interférents.

Substances interférentes

L'effet de substances potentiellement interférentes a été évalué en analysant un échantillon de sang total prélevé sur EDTA, hétérozygote pour les trois gènes d'intérêt, dopé avec les substances potentiellement interférentes suivantes : bilirubine 300 µg/mL, triglycérides 4 mg/mL, héparine 8,3 µg/mL, EDTA 50 mM, ibuprofène 100 µg/mL, ganciclovir 10 µg/mL, ampicilline 18 µg/mL et cyclosporine 0,3 µg/mL.

Les échantillons dopés avec les substances et un échantillon de référence (non dopé) ont été utilisés pour effectuer l'intégralité de la procédure d'analyse, d'extraction et d'amplification en 3 réplicats, avec le produit et le **ELITE InGenius**. Tous les réplicats étaient valides et ont été correctement génotypés.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillon	Génotype FV hétérozygote/FII hétérozygote/MTHFR hétérozygote	Ct IC (valeur seuil = 26,5)			Résultat
		réplicats			
		1	2	3	
Contrôle	3/3	22,72	22,42	22,25	Aucune interférence
Cyclosporine A	3/3	22,55	22,17	22,31	Aucune interférence
Ganciclovir	3/3	22,47	22,87	22,35	Aucune interférence
Héparine	3/3	22,31	22,67	22,31	Aucune interférence
EDTA	3/3	23,27	23,46	23,41	Aucune interférence
Ibuprofène	3/3	24,98	23,77	23,59	Aucune interférence
Triglycérides	3/3	23,42	24,49	24,51	Aucune interférence
Ampicilline	3/3	22,59	22,69	22,26	Aucune interférence
Bilirubine	3/3	22,73	22,61	22,35	Aucune interférence

Répétabilité

La répétabilité des résultats obtenus avec le produit Coagulation ELITE MGB Kit en association avec les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** a été testée en analysant un panel d'échantillons de sang total prélevé sur EDTA consistant en 3 échantillons :

- génotype FII SNP G1691A hétérozygote (Leiden) (FV normal et MTHFR normal),
- génotype FV SNP G20210A hétérozygote (FII normal et MTHFR hétérozygote),
- génotype MTHFR SNP C677T hétérozygote (FII normal et FV normal).

La répétabilité intra-session a été obtenue en analysant 3 échantillons du panel, chacun étant hétérozygote pour le SNP d'intérêt d'un seul gène, en 8 réplicats à raison d'une analyse par jour, avec le même lot de produit, sur le même instrument et le même jour. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

La répétabilité inter-sessions a été obtenue en analysant 3 échantillons du panel, chacun étant hétérozygote pour le SNP d'intérêt d'un seul gène, en 8 réplicats à raison d'une analyse par jour, avec le même lot de produit, sur le même instrument, et sur deux jours différents. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Tous les réplicats étaient valides et ont été correctement déterminés. La variabilité des résultats obtenus a été calculée en tant que % CV des valeurs Ct de l'IC et de Tm des trois gènes d'intérêt.

Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants.

Répétabilité intra-session avec le ELITE InGenius				
Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G1691A hétérozygote	IC	8	22,07	0,41
FV SNP G20210A hétérozygote		8	22,91	0,76
MTHFR SNP C677T hétérozygote		8	22,02	1,22

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

Répétabilité inter-sessions avec le ELITE InGenius				
Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G1691A hétérozygote	IC	16	22,12	1,12
FV SNP G20210A hétérozygote		16	22,91	0,75
MTHFR SNP C677T hétérozygote		16	22,10	1,36

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

La répétabilité du produit Coagulation ELITE MGB Kit avec le **ELITE InGenius** a montré des valeurs Ct de l'IC avec un % CV inférieur à 5 % et une valeur de Tm des trois gènes d'intérêt inférieure à 5 %.

Répétabilité intra-session avec le ELITE BeGenius				
Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G1691A hétérozygote	IC	8	22,35	1,90
FV SNP G20210A hétérozygote		8	22,95	2,20
MTHFR SNP C677T hétérozygote		8	22,40	1,28

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

Répétabilité inter-sessions avec le ELITE BeGenius				
Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G1691A hétérozygote	IC	16	22,26	1,58
FV SNP G20210A hétérozygote		16	23,10	2,02
MTHFR SNP C677T hétérozygote		16	22,45	1,75

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

La répétabilité du produit Coagulation ELITE MGB Kit avec le **ELITE BeGenius** a montré des valeurs Ct de l'IC avec un % CV inférieur à 5 % et une valeur de Tm des trois gènes d'intérêt inférieure à 5 %.

Reproductibilité

La reproductibilité des résultats obtenus avec le produit Coagulation ELITE MGB Kit en association avec les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** a été testée en analysant un panel d'échantillons de sang total prélevé sur EDTA consistant en 3 échantillons :

- génotype FII SNP G1691A hétérozygote (Leiden) (FV normal et MTHFR normal),
- génotype FV SNP G20210A hétérozygote (FII normal et MTHFR hétérozygote),
- génotype MTHFR SNP C677T hétérozygote (FII normal et FV normal).

La reproductibilité inter-lots a été obtenue en analysant 3 échantillons du panel, chacun étant hétérozygote pour le SNP d'intérêt d'un seul gène, en 8 réplicats par jour, avec 2 lots différents, sur le même instrument et sur 2 jours. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

La reproductibilité inter-instruments a été obtenue en analysant 3 échantillons du panel, chacun étant hétérozygote pour le SNP d'intérêt d'un seul gène, en 8 réplicats par jour, sur 2 instruments différents, avec 2 opérateurs différents et sur 2 jours. Les échantillons ont été traités à des positions aléatoires en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Tous les réplicats étaient valides et ont été correctement déterminés. La variabilité des résultats obtenus a été calculé en tant que % CV des valeurs Ct de l'IC et de Tm des trois gènes d'intérêt.

Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants.

Reproductibilité inter-lots avec le ELITE InGenius				
Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G1691A hétérozygote	IC	16	22,28	1,28
FV SNP G20210A hétérozygote		16	22,46	2,58
MTHFR SNP C677T hétérozygote		16	23,14	1,47

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

Reproductibilité inter-instruments avec le ELITE InGenius				
Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G1691A hétérozygote	IC	16	22,38	1,53
FV SNP G20210A hétérozygote		16	22,45	2,34
MTHFR SNP C677T hétérozygote		16	23,13	1,27

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

La reproductibilité du produit Coagulation ELITE MGB Kit avec le **ELITE InGenius** a montré des valeurs Ct de l'IC avec un % CV inférieur à 5 % et une valeur de Tm des trois gènes d'intérêt inférieure à 5 %.

Reproductibilité inter-lots avec le ELITE BeGenius				
Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G1691A hétérozygote	IC	16	22,42	1,72
FV SNP G20210A hétérozygote		16	22,60	1,99
MTHFR SNP C677T hétérozygote		16	22,80	2,20

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

Reproductibilité inter-instruments avec le ELITE BeGenius				
Échantillon du panel	Cible	N	Ct moyen	% CV Ct
FII SNP G1691A hétérozygote	IC	16	22,51	1,60
FV SNP G20210A hétérozygote		16	22,63	1,68
MTHFR SNP C677T hétérozygote		16	23,15	1,83

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

La reproductibilité du produit Coagulation ELITE MGB Kit avec le **ELITE BeGenius** a montré un % CV de la valeur Ct d'amplification de l'IC inférieure à 5 % et un % CV de la valeur de Tm des trois gènes d'intérêt inférieure à 5 %.

Robustesse : test de contamination croisée

L'absence de contamination croisée a été vérifiée en analysant des échantillons de sang total en alternance avec de l'eau de qualité biologie moléculaire.

Dans ce test, 6 échantillons de sang total ont été testés en alternance avec 6 échantillons d'eau et ont été utilisés pour effectuer l'intégralité de la procédure d'analyse, d'extraction et d'amplification, avec le produit Coagulation ELITE MGB Kit et le **ELITE InGenius** dans cinq sessions d'analyse différentes.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

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

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

Concordance diagnostique : confirmation du génotype d'un échantillon certifié

La concordance diagnostique de ce test, en tant que capacité à correctement identifier le génotype d'un échantillon certifié, a été testée sur des échantillons cliniques de sang total prélevés chez des sujets dont le génotype était connu et, pour les génotypes homozygotes mutés des loci du SNP G20210A du Facteur II et du SNP C677T de la MTHFR, sur des échantillons simulés.

La concordance diagnostique a été vérifiée en utilisant 219 échantillons de sang total prélevé sur EDTA issus de différents sujets, dont le génotype a été déterminé par des tests de PCR en temps réel de référence validés, et 92 échantillons simulés possédant un génotype homozygote muté, préparés avec des mélanges d'ADN plasmidique dans une matrice de plasma.

Les échantillons ont été testés par la procédure d'extraction et d'amplification en utilisant le produit et le **ELITe InGenius**.

Les résultats sont résumés dans les tableaux suivants.

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

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

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

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

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

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

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

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

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 « **Coagulation ELITe MGB Kit** », FTP RTSD00ING.

BIBLIOGRAPHIE

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

LIMITES DE LA PROCÉDURE

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

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

Les résultats obtenus avec ce produit dépendent de l'identification, 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 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 appropriés dédiés 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.

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

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

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

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, il existe un risque résiduel d'obtention de résultats non valides, non concluants et incorrects avec ce produit. Ce risque résiduel ne peut pas être éliminé ni davantage réduit. Dans certains cas, ce risque résiduel pourrait contribuer à prendre de mauvaises décisions, avec des effets potentiellement dangereux pour le patient. Néanmoins, ce risque résiduel associé à l'utilisation prévue du produit a été évalué comme acceptable au regard des avantages potentiels pour le patient.

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Réaction du Contrôle positif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et du contrôle positif. Vérifier le volume du PCR Mix et du contrôle positif.
Dégradation du contrôle positif.	Utiliser une nouvelle aliquote du contrôle positif.
Dégradation du PCR Mix.	Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique de ELITechGroup.

Réaction du Contrôle négatif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et du contrôle négatif. Vérifier le volume du PCR Mix et du contrôle négatif.
Contamination du Contrôle négatif	Utiliser une nouvelle aliquote d'eau de qualité biologie moléculaire.
Contamination du PCR Mix.	Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.
Contamination de la zone d'extraction, des portoirs ou du « Inventory Block » (Bloc inventaire).	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 de ELITechGroup.

Réaction de l'échantillon non valide ou non concluante	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et de l'échantillon. Vérifier le volume du PCR Mix et de l'échantillon.
Dégradation du PCR Mix.	Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.
Substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification avec une dilution à 1: 2 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse en mode « PCR Only » (PCR uniquement).
Quantité d'ADN insuffisante dans l'échantillon.	Répéter l'extraction et l'amplification avec une nouvelle aliquote de l'échantillon, lors d'une session d'analyse en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique de ELITechGroup.

Erreur 30103	
Causes possibles	Solutions
Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon.	Répéter la réaction d'amplification de l'échantillon avec une dilution à 1:10 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse en mode « PCR Only » (PCR uniquement).

Erreur TH, Erreur SDM, Erreur Ct	
Causes possibles	Solutions
Forme anormale de la courbe de l'échantillon.	Répéter la réaction d'amplification de l'échantillon avec une dilution à 1:10 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse en mode « PCR Only » (PCR uniquement).

LÉGENDE DES SYMBOLES

	Numéro de référence.
	Limite supérieure de température.
	Code de lot.
	Date de péremption (dernier jour du mois).
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> .
	Conforme aux exigences du Règlement IVDR 2017/746/CE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> . Certification délivrée par TÜV SÜD Product Service GmbH, Allemagne.
	Identifiant unique de dispositif
	Contenu suffisant pour « N » tests.
	Attention, consulter le mode d'emploi.
	Contenu.
	Tenir à l'abri de la lumière du soleil.
	Fabricant.

AVIS AUX UTILISATEURS

Tout incident grave lié au dispositif doit être signalé au fabricant ainsi qu'à l'autorité compétente de l'état membre dans lequel réside l'utilisateur et/ou le patient. Au moment de la révision actuelle de la notice d'utilisation (mode d'emploi), aucun incident grave ou rappel du dispositif n'a eu lieu.

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

NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

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

Les réactifs de détection ELITe MGB® sont couverts par un ou plusieurs des brevets américains numéros 6972339, 7112684, 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7582739, 7601851, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 7851606, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8569516, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 et par les brevets EP numéros 1430147, 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161, ainsi que par des demandes de brevet actuellement en instance.

La technologie ELITe InGenius® et ELITe BeGenius® est couverte par des brevets ou fait l'objet de demandes de brevet.

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 ne concèdent d'autres licences, expresses ou implicites, à toute autre fin.

Coagulation ELITE MGB® kit used with ELITE InGenius and ELITE BeGenius

Ref: RTSD00ING



This document is a simplified version of the official instruction for use. Please refer to the complete document before use: www.elitechgroup.com
This document is available only in English.

A. Intended use

The product **Coagulation ELITE MGB® Kit** is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the allelic discrimination of the following three loci in human genomic DNA samples extracted from clinical specimens:

- coagulation Factor V gene, single nucleotide polymorphism (SNP) G1691A (Leiden),
- coagulation Factor II gene, SNP G20210A,
- 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene, SNP C677T.

The assay is validated in association with the **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®**, automated and integrated instruments for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of whole blood collected in EDTA.

The product is intended for use as an aid in assessing the risk of deep vein thrombosis in patients suspected of having coagulation disorders and at risk of deep vein thrombosis.

The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory outcomes.

B. Amplified sequence

Target	Gene	Fluorophore
SNP G1691A (Leiden)	Factor V	AP639
SNP G20210A	Factor II	FAM
SNP C677T	MTHFR	AP593
Internal Control	Human beta Globin gene	AP525

C. Validated matrix

Whole Blood collected in EDTA.

D. Kit content

52M PCR Mix



X 8

Storage temperature: - 20°C or below

Ready-to-use PCR Master Mix
8 tubes of 280 µL
96 reactions per kit
7 freeze-thaw cycles per tube

E. Material required not provided in the kit

- › **ELITE InGenius** instrument: INT030
- › **ELITE BeGenius** instrument: INT040
- › **ELITE InGenius SP200** extraction cartridge: INT032SP200
- › **ELITE InGenius PCR Cassette** amplification cartridge: INT035PCR
- › **ELITE InGenius SP200 Consumable Set** consumable for extraction: INT032CS
- › **Coagulation - ELITE Positive Control**: CTRD00ING
- › **ELITE InGenius Waste Box**: F2102-000
- › **300 µL Filter Tips Axygen**: TF-350-L-R-S with ELITE InGenius only
- › **1000 µL Filter Tips Tecan**: 30180118 with ELITE BeGenius only

F. Protocol

- | | | | |
|---------------------------|--------|-------------------------------|----------------|
| › Sample volume | 200 µL | › Unit of quantitative result | Not Applicable |
| › Total eluate volume | 200 µL | › Frequency of controls | 15 days |
| › PCR eluate input volume | 20 µL | › Frequency of calibration | Not Applicable |
| › Q-PCR Mix volume | 20 µL | | |

G. Performance

Target	Limit of Detection	Total Diagnostic Agreement
Factor V SNP G1691A	70ng DNA/reaction	100%
Factor II SNP G20210A	70ng DNA/reaction	100%
MTHFR SNP C677T	70ng DNA/reaction	100%

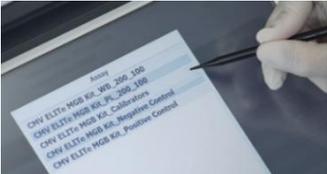
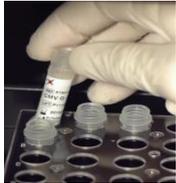
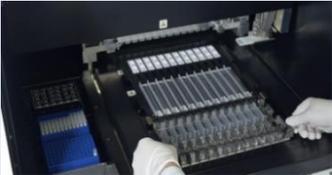
H. Procedures ELITE InGenius

The user is guided step-by-step by the ELITE InGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, PCR only or extraction only.

Before analysis

1. Switch on ELITE InGenius Identification with username and password Select the mode "Closed"	2. Verify controls: 52M positive and negative controls in the "Control menu" <i>N.B:</i> Both have been run, approved and not expired	3. Thaw the 52M-PCR-Mix tube Vortex gently Spin down 5 sec
---	--	--

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen 	2. Verify the extraction volume: Input: "200 µL", eluate: "200 µL" 	3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID 
4. Select the "Assay protocol" of interest 	5. Select the sample position: Primary tube or extraction tube 	6. Load the PCR Mix in the inventory block 
7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip, extraction tube and primary sample racks 	8. Close the door Start the run 	9. View, approve and store the results 

Procedure 2 - PCR only

1 to 4: Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the protocol "PCR only" and set the sample position "Extra tube"	6. Load the extracted nucleic acid tubes in the Elution tubes rack
7. Load the PCR cassette rack Load the PCR Mix in the inventory block	8. Close the door Start the run	9. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

<p>1 to 4 : Follow the Complete Run procedure described above</p>	<p>5. Select the protocol “Extraction Only” and set the sample position: Primary tube or Secondary tube</p>	<p>6. Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, extraction tube and primary sample racks</p>
<p>7. Close the door Start the run</p>	<p>8. Archive the eluate sample</p>	

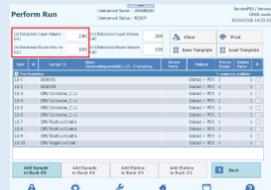
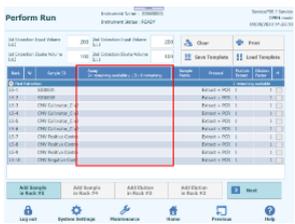
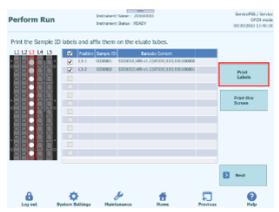
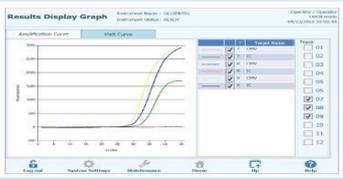
I. Procedures ELITE BeGenius

The user is guided step-by-step by the ELITE BeGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, PCR only or extraction only.

Before analysis

<p>1. Switch on ELITE BeGenius. Log in with username and password. Select the mode “Closed”.</p>	<p>2. Verify controls: 52M Positive Control and 52M Negative Control in the “Controls” menu. <i>Note:</i> Both must have been run, approved and not expired.</p>	<p>3. Thaw the 52M PCR Mix tube. Vortex gently. Spin down 5 sec.</p>
---	---	---

Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

<p>1. Select “Perform Run” on the touch screen and then click on the run mode «Extraction and PCR»</p> 	<p>2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the cooling area. The barcode scan is already active</p> 	<p>3. Verify the extraction volumes: Input: “200 µL”, Eluate: “200 µL”</p> 
<p>4. Select the “Assay protocol” of interest</p>  <p>Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4</p>	<p>5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the cooling area</p> 	<p>6. Load the Q-PCR-Mix in Reagent Rack and insert it in the cooling area</p> 
<p>7. Load: Filter Tips, Extraction rack, and PCR rack</p> 	<p>8. Close the door. Start the run</p> 	<p>9. View, approve and store the results</p> 

Procedure 2 - PCR only

1. Select "Perform Run" on the touch screen and the click on the run mode «PCR Only»	2. Load the extracted nucleic acid barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the cooling area	3. Select the "Assay protocol" of interest
4. Load the Q-PCR-Mix in Reagent Rack and insert it in the cooling area Load filter tips and the PCR rack	5. Close the door. Start the run	6. View, approve and store the results

Procedure 3 - Extraction only

1 to 4 : Follow the Complete Run procedure described above	5. Select the protocol "Extraction Only" in the Assay Protocol selection screen.	6. Load : Filter Tips and the Extraction Rack
7. Close the door Start the run	8. Archive the eluate sample	