

ParaGENIE *Crypto-Micro* Real-Time PCR Kit

ParaGENIE *Crypto-Micro* Real-Time PCR Kit

L'utilisation de ParaGENIE Crypto-Micro est réservée au personnel de laboratoire qualifié. Ce test est indiqué pour la détection qualitative d'ADN génomique et la différentiation de Cryptosporidium spp., Enterocytozoon bieneusi et Encephalitozoon intestinalis extraits à partir de selles



ParaGENIE *Crypto-Micro* Real-Time PCR Kit

REF 60405

Usage prévu	2
Résumé et explication	2
Principes de la procédure	2
Contenu du kit	3
Conservation	3
Précautions	3
Matériel requis non fournis	4
Mode opératoire	4
Résolution des problèmes	7
Performances	8
Limitations	10
Références	10
Information commerciale	10
Symboles	11
Informations au client	12



Ademtech
Bioparc BioGalien Bat. C, 1er Etage,
27 allée Charles Darwin, 33600 PESSAC, FRANCE
Tel. : +33 (0)557 020 201 Fax : +33 (0)557 020 206

Version 1.6
www.ademtech.com



Usage prévu

ParaGENIE *Crypto-Micro* Real-Time PCR Kit est un test de diagnostic *in vitro* reposant sur une PCR multiplex pour la détection rapide et qualitative et la différenciation de *Cryptosporidium* spp., *Enterocytozoon bieneusi* et *Encephalitozoon intestinalis* à partir de selles. Les acides nucléiques des parasites sont extraits à partir d'échantillons cliniques obtenus de patients.

Le test est une aide au diagnostic chez les patients suspectés d'une diarrhée d'origine parasitaire.

Le kit ParaGENIE *Crypto-Micro* Real-Time PCR a été validé sur les appareils suivants :

- LightCycler® 480 REAL-TIME Instrument I &II (Roche Diagnostics)
- CFX96 Real-Time PCR Detection System (BIORAD)
- ABI 7500 (Applied Biosystems)

Résumé et explication

Chez les patients immunodéprimés, les infections à *Cryptosporidium* spp. et microsporidies sont responsables de diarrhées chroniques conduisant progressivement à la cachexie en l'absence de traitement. 90% des cryptosporidioses humaines sont liées à *C. parvum* et *C. hominis*¹. D'autres espèces ont également été mises en évidences chez l'homme comme par exemple *C. bovis*, *C. felis*, *C. muris* et *C. meleagridis*. Les études de prévalence révèlent de fortes disparités avec des taux variant entre 0,6 % et 2% dans les pays industrialisés (Europe et Etats-Unis) et entre 4% et 32% dans les pays en voie de développement². En ce qui concerne les microsporidies, 14 espèces sont pathogènes chez l'homme et sont à l'origine de pathologies très différentes selon l'organe cible³. 90% des cas de microsporidiose intestinale sont liées à *E. bieneusi* et moins fréquemment à *E. intestinalis*.

Habituellement, le diagnostic de ces infections repose sur la mise en évidence des oocystes ou des spores dans les selles en utilisant des colorants spécifiques⁴. Ces techniques sont complexes à mettre en œuvre et demandent du temps et une expertise technique du biologiste. L'identification d'*E. bieneusi* et d'*E. intestinalis* est quant à elle essentielle car le choix du traitement est dépendant de l'espèce en cause. Pour toutes les infections, des détections plus sensibles et plus spécifiques peuvent être effectuées par les techniques de biologie moléculaire^{5,6}. Bien que les méthodes de détection par PCR aient été utilisées avec succès pour ce type d'infections, leur application pour des tests en routine demeure limitée. Le développement récent de méthode d'extraction de selles efficace permet maintenant de faciliter l'introduction et l'utilisation de la détection par qPCR en routine pour le diagnostic de ces infections.

ParaGENIE *Crypto-Micro* Real-Time PCR Kit est un kit de détection moléculaire de l'ADN de *Cryptosporidium* spp. et de microsporidies utilisant la technologie 5' exonucléasique de PCR en temps réel. La procédure complète du test, incluant l'extraction d'ADN à partir d'échantillons cliniques, peut être effectuée en 2h30. Ce test permet une détection sensible, spécifique et rapide de *Cryptosporidium* spp., *Enterocytozoon bieneusi* et *Encephalitozoon intestinalis*.

Principes de la procédure

Le test contient un Contrôle Interne (CI) qui est un fragment d'ADN absent des génomes des espèces fongiques, bactériennes et humaines. Il permet de détecter la présence de substances inhibitrices de la réaction de PCR et des réactifs du test. Après mélange des réactifs contenus dans le kit « ParaGENIE *Crypto-Micro* Real-Time PCR Kit » avec l'échantillon qui contient l'ADN des espèces ciblées, l'amplification peut commencer.

Le kit « ParaGENIE *Crypto-Micro* Real-Time PCR Kit » contient 3 couples d'amorces ciblant des gènes de *Cryptosporidium* spp., *Enterocytozoon bieneusi* (Eb) et *Encephalitozoon intestinalis* (Ei), ainsi que le Contrôle Interne. Dans la qPCR, des sondes oligonucléotidiques couplées à des fluorophores sont utilisées pour détecter l'amplification de l'ADN par hybridation à la cible. En absence d'ADN cible, les sondes correspondantes n'émettent pas de fluorescence et aucun signal n'est par conséquent détecté. Lorsque l'ADN cible est présent, l'intensité de la fluorescence correspondante augmente à chaque cycle d'amplification.

Contenu du kit

Contenu du Kit : le kit est prévu pour la réalisation de 24 réactions (25µl volume final)

ParaGENIE <i>Crypto-Micro</i> Real-Time PCR Kit		Nombre de preps : 24
		N°: 60405
Réactifs	Désignation	Volume
Tube R1 (Bouchon bleu rayé blanc)	Amplification Mix	1 X 72µl
Tube R2 (Bouchon vert rayé blanc)	Amplification Diluant	1x 340µl
Tube R3 (Bouchon violet rayé blanc)	Internal Control	1 X 480µl
Tube R4 (Bouchon blanc cassé rayé blanc)	Positive Control	1 X 40µl

NOTE ! Le témoin négatif de la PCR (eau de grade PCR) n'est pas inclus dans le kit ParaGENIE *Crypto-Micro* Real-Time PCR Kit.

Conservation

- Conservez les réactifs (ouverts ou non) à -20°C jusqu'à la date prescrite.
- Toujours vérifier la date d'expiration des réactifs.
- Afin d'éviter leur dégradation, nous vous recommandons de ne pas exposer les réactifs de PCR en temps réel à plus de 4 cycles de congélation-décongélation.
- Evitez l'exposition à la lumière.

Précautions

Recommandations générales

- Utilisation en Diagnostic *in vitro* seulement.
- Lire attentivement la notice avant utilisation.
- Toujours porter des dispositifs de protection adaptés pour la manipulation des réactifs (gants, blouse).
- Ne pas échanger les tubes de réactif entre les lots ni ne substituer les réactifs avec ceux d'un autre fournisseur.
- L'utilisation de ce produit doit être limitée au personnel habilité et formé aux techniques de qPCR.
- Ne pas utiliser des réactifs dont l'emballage a été rompu avant réception.
- Ne pas utiliser des réactifs expirés.

Contamination

- Le laboratoire de PCR (hotte, plateforme d'extraction, paillasse, ...) doit être propre et nettoyé après chaque expérience de PCR à l'aide de solutions appropriées.

- Les tubes contaminés (réactifs ou kits) doivent être éliminés dans un conteneur spécifique pour déchets biologiques.
- Conserver tous les tubes fermés lorsqu'inutilisés.
- Un témoin positif et un témoin négatif doivent être réalisés à chaque test.
- Utiliser des pointes à filtre pour le pipetage des réactifs de PCR.
- Collecter les tubes avant utilisation.

Matériels requis non fournis

- Micro-pipettes et pointes à filtre stériles
- Gants non poudrés
- Agitateur de type Vortex
- Instrument de PCR en temps réel (qPCR)
- Consommables et accessoires adaptés à l'instrument de qPCR
- Centrifugeuse de paillasse
- Microtubes (1,5 ou 2 ml) sans RNase ni DNase
- Eau de grade PCR sans RNase ni DNase
- Kit d'extraction d'ADN (nous vous recommandons l'utilisation du kit d'extraction « ParaGENIE Stool DNA Extraction Kit » (automatisé #60403)

Mode opératoire

Le kit « ParaGENIE *Crypto-Micro* Real-time PCR Kit » contient un contrôle interne CI (Internal Control) qui peut être utilisé comme contrôle d'inhibition de la PCR. Pour l'utilisation d'un contrôle d'extraction d'acides nucléiques, il est nécessaire d'utiliser le produit « Extraction Control » (#60900). Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent un Contrôle Interne lors de chaque extraction d'acides nucléiques. Afin d'éviter les contaminations croisées avec les réactions de PCR précédentes, le mix PCR ParaGENIE *Crypto-Micro* contient une UDG (Uracil-DNA Glycosylase) qui dégrade les produits de PCR contenant des uraciles.

La procédure complète du test inclut l'étape d'extraction d'ADN à partir d'échantillons cliniques obtenus de patients. Pour l'extraction, référez-vous aux instructions du fournisseur. Ademtech propose des solutions d'extraction afin d'éviter autant que possible les inhibiteurs de PCR (cf. Limitations). Lorsque la procédure d'extraction est terminée, analyser directement l'ADN purifié ou conserver à -20°C jusqu'à l'analyse.

a) Création du protocole de qPCR



b) Sélection des fluorophores

	Reporteur/ Filtres				Quencher
	Crypto	Eb	IC	Ei	
7500/ViiA7 -Applied Biosystems⁽¹⁾	FAM	VIC	ROX	Cy5	Non
Mx3000P -Agilent Technologies	FAM	HEX	ROX	Cy5	
CFX96 -Biorad	FAM	HEX	ROX	Cy5	
SmartCycler® II -Cepheid®	FAM	Alexa 532	Texas Red	Alexa 647	
LC480 I⁽²⁾ -Roche Diagnostics	483/533	523/568	558/610	615/670	
LC480 II⁽²⁾ -Roche Diagnostics	465/510	533/580	533/610	618/660	
RotorGene -Qiagen	FAM	HEX	ROX/Texas Red	Cy5	

NOTE 1 ! Avant d'effectuer une expérience de qPCR sur l'ABI 7500, assurez-vous de bien avoir désactivé le fluorophore de référence (ROX reference dye) avant l'acquisition et l'analyse.

NOTE 2 ! Avant d'effectuer une expérience de qPCR sur le LightCycler® 480, une étape de calibration des filtres est nécessaire par le biais de la création d'un Color Compensation Object.

NOTE 3 ! Pour une utilisation sur un CFX96, il est impératif d'utiliser des plaques blanches.

c) Préparation de la PCR en temps réel

Avant de démarrer

Tous les réactifs doivent être décongelés, puis équilibrés à Température Ambiante et centrifugés brièvement avant de préparer une réaction.

1. Reconstitution du tube R1 (Amplification Mix)

- Vortexer et centrifuger le tube R2 (Bouchon Vert).
- Ajouter 340 µL du tube R2 (Bouchon Vert) dans le tube R1 (Bouchon Bleu).
- Vortexer 10 secondes et centrifuger le tube R1 reconstitué (Bouchon Bleu).

NOTE 1 ! Ainsi préparé, le mix reconstitué (tube R1 - Bouchon Bleu) doit être stocké à -20°C et est stable pendant 6 mois. Il peut subir jusqu'à 4 cycles de congélation/décongélation

NOTE 2 ! Une fois reconstitué, le tube R1 (Bouchon Bleu) peut-être directement utilisé : suivre « Préparation du pré-mix ».

2. Préparation du pré-mix

- Si le Contrôle d'extraction (CE) est utilisé comme contrôle (Extraction Control, #60900), suivre les instructions du tableau suivant :

Nombre de réactions	1
R1 reconstitué (Bouchon Bleu)	15µL
Eau de grade PCR	5µL

- Si le Contrôle Interne (CI – Internal Control) est utilisé comme contrôle des inhibiteurs de PCR, suivre les instructions du tableau suivant :

Nombre de réactions	1
R1 reconstitué (Bouchon Bleu)	15µL
Contrôle Interne (Bouchon Violet)	5µL (dilué au 1/10)

- Préparation pour la PCR du témoin négatif (NTC) et du témoin positif (Positive Control)

Nombre de réactions	1
R1 reconstitué (Bouchon Bleu)	15µL
Eau de grade PCR	5µL

Attention ! Utilisez seulement de l'eau de grade PCR pour la préparation des réactions de PCR pour les témoins positif et négatif et surtout pas le contrôle interne

3. Préparation des réactions PCR

Préparer la PCR selon le tableau suivant (volume par réaction) :

Réaction de PCR	
Pré-Mix	20µL
Echantillons, Témoin Positif (Bouchon Blanc), témoin négatif (Eau de grade PCR)	5µL
Volume total	25µL

NOTE 1 ! Assurez-vous d'utiliser un témoin positif et un témoin négatif au minimum par analyse.

NOTE 2 ! Préparer toujours le témoin négatif en premier, suivi des échantillons de patients. Il est préférable de préparer le témoin positif (Positive Control) en dernier. Faire preuve de précaution lorsque vous pipetez le témoin positif afin de ne pas contaminer les autres tubes ou puits

NOTE 3 ! Les mélanges réactionnels du kit « ParaGENIE *Crypto-Micro* Real-time PCR Kit » restent stables à température ambiante pendant un maximum de 15 heures

d) Analyse et interprétation des résultats

1) Les critères de validation

Le seuil Clinique de détection (CCO) est fixé à 45 cycles.

L'essai est valide si et seulement si :

Témoin Positif	Cq < 33 pour toutes les cibles
Témoin Négatif	Cq > 45 pour toutes les cibles

Si l'essai est invalide, lisez le paragraphe §9 Résolution des problèmes.

NOTE ! Les valeurs de Cq des cibles peuvent varier d'un modèle de thermocycleur à un autre. Régler les seuils pour obtenir des Cq valides pour le témoin positif.

2) Interprétation des résultats

Analyser les cibles parasitaires et le Contrôle Interne (IC – Internal Control) ensemble.

	Résultats		
	Positif	Négatif	Résultat invalide
Crypto / Eb / Ei	Cq<45	Cq>45	Cq>45
IC	Cq<35	Cq<35	Cq>35

NOTE ! L'ADN extrait à partir d'un échantillon de selle peut conduire à un retard du contrôle interne (Internal Control) (Cq>35) en raison de la présence d'inhibiteurs. Si le Cq (Crypto/Eb/Ei) < 45, l'échantillon clinique peut quand même être considéré comme positif. En cas de doute, réextraire l'échantillon ou réanalyser l'éluat dilué au 1/10.

Résolution des problèmes

L'essai est invalide

- Le témoin négatif a généré un signal positif dans un ou plusieurs canaux :
Une contamination a pu avoir lieu lors de la préparation des réactions de PCR, les résultats obtenus sont considérés comme invalides.
 - Recommez l'essai et prenez la plus grande précaution lorsque vous ajoutez le contrôle positif.
 - Assurez-vous d'avoir bien décontaminé le plan de travail et l'instrument avant utilisation.

Interprétation des résultats

- L'échantillon clinique génère un résultat invalide :
Il est probable que l'échantillon clinique contienne des inhibiteurs de PCR. Diluer l'éluat d'extraction au 1/10eme et refaire l'analyse.
 - Nous vous recommandons d'utiliser notre kit d'extraction automatisé ParaGENIE Stool DNA Extraction Kit (automatisé #60403).
- Il n'y aucun signal dans aucun canal pour aucun des échantillons ni pour le contrôle positif :
Les conditions de conservation et la date limite d'utilisation du kit n'ont pas été respectées.
 - Merci de vérifier les conditions de conservation et vérifier la date limite d'utilisation.
Refaire l'analyse en utilisant un kit avec une date d'utilisation valide.

L'équipement utilisé est non fonctionnel

- Merci de vérifier que le plan de maintenance de l'instrument de PCR en temps réel a été respecté et que l'instrument est bien calibré.

Un programme incorrect a été utilisé pendant l'essai.

- Merci de vous référer au mode opératoire pour créer un programme. Refaire l'analyse

Performances

a) Sensibilité

A partir du mode opératoire décrit ci-dessus, la limite du blanc (LOB) déterminée pour le test « ParaGENIE *Crypto-Micro* Real-Time PCR Kit » correspond à 45 cycles.

Les limites de détection des 3 espèces de parasites ciblés sont :

<i>Cryptosporidium</i>	30 copies de gène
<i>E. bieneusi</i>	10 copies de gène
<i>E. intestinalis</i>	20 copies de gène

b) Spécificité

Les couples d'amorces ainsi que les sondes spécifiques ont été sélectionnées à partir de la littérature. Les homologies possibles ont ensuite été vérifiées par alignement de séquence avec les séquences publiées dans GenBank.

La spécificité analytique a été testée en utilisant de l'ADN extrait à partir de diverses espèces parasitaires. Les ADN génomiques de *Cryptosporidium parvum*, *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium felis*, *Cryptosporidium cuniculus*, *Cryptosporidium viatorum*, *Cryptosporidium ubiquitum*, *Cryptosporidium horse genotype*, *Cryptosporidium meleagridis*, *Cryptosporidium erinacei*, *Cryptosporidium chipmunk genotype*, *Cryptosporidium suis*, *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon intestinalis* sont détectés à l'aide du kit « ParaGenie *Crypto-Micro* Real-Time PCR Kit ».

Les ADN des parasites grastro-intestinaux suivants, présents dans des selles cliniques, n'ont pas donné de résultat positif :

<i>Entamoeba dispar</i> (n=3)	<i>Endolimax nana</i> (n=2)	<i>Pentatrichomonas intestinalis</i> (n=1)
<i>Entamoeba coli</i> (n=5)	<i>Blastocystis</i> spp. (n=3)	<i>Schistosoma mansoni</i> (n=1)
<i>Entamoeba hartmanni</i> (n=2)	<i>Giardia intestinalis</i> (n=2)	<i>Iodamoeba butschlii</i> (n=1)
<i>Entamoeba histolytica</i> (n=1)	<i>Hymenolepis nana</i> (n=1)	<i>Sarcocystis</i> spp. (n=1)
<i>Dientamoeba fragilis</i> (n=1)	<i>Cystoisospora belli</i> (n=1)	<i>Chilomastix</i> spp. (n=1)
<i>Taenia</i> spp. (n=1)	<i>Trichuris trichiura</i> (n=1)	Œufs ankylostomidés (n=1)

c) Reproductibilité et répétabilité

La reproductibilité du test a été déterminée par 5 manipulateurs qui ont réalisé une dilution en série sur quatre points de 3 lots d'ADN synthétique, incluant la séquence cible de *Cryptosporidium* spp., *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon intestinalis*, et le Contrôle Interne. Les expériences ont été réalisées sur 3 lots de mix et sur le même instrument de PCR en temps réel (CFX96 Biorad), sur une période de 2 mois, représentant un total de 30 quantifications par point de gamme.

La répétabilité du test a été évaluée sur deux niveaux de concentration (1xLOD et 3xLOD) d'ADN synthétique contenant la séquence du gène ciblé de *Cryptosporidium* spp., *Enterocytozoon bieneusi* et *Encephalitozoon intestinalis*. Chaque concentration a été quantifiée 30 fois.

1xLOD :

Les quantifications *Cryptosporidium* spp. pour les concentrations 30 copies ont mené à un Cq moyen de 34.7, avec un écart-type de 0.7, soit un CV de 2.1 %.

Les quantifications *Enterocytozoon bieneusi* pour les concentrations 10 copies ont mené à un Cq moyen de 34.6, avec un écart-type de 1.1, soit un CV de 3.1%.

Les quantifications *Encephalitozoon intestinalis* pour les concentrations 20 copies ont mené à un Cq moyen de 34.3, avec un écart-type de 0.6, soit un CV de 1.7 %.

3xLOD :

Les quantifications *Cryptosporidium* spp. pour les concentrations 90 copies ont mené à un Cq moyen de 33.2, avec un écart-type de 0.4, soit un CV de 1.2 %.

Les quantifications *Enterocytozoon bieneusi* pour les concentrations 30 copies ont mené à un Cq moyen de 32.8, avec un écart-type de 0.4, soit un CV de 1.1%.

Les quantifications *Encephalitozoon intestinalis* pour les concentrations 60 copies ont mené à un Cq moyen de 32.7, avec un écart-type de 0.3, soit un CV de 1.0 %.

d) Performances cliniques

Les performances du kit « ParaGENIE *Crypto-Micro* Real Time PCR Kit » ont été établies lors d'une étude rétrospective réalisée sur 124 échantillons de selles de patients. Les échantillons ont été traités selon le protocole indiqué dans le kit « ParaGENIE Stool DNA Extraction Kit », puis extraits à l'aide de l'instrument AutoMag Solution. L'analyse qPCR a été réalisée sur un appareil CFX-96™ BIORAD. Les résultats ont été comparés à l'examen microscopique direct avec coloration de Ziehl, et à des tests PCR externes pour les microsporidies.

Les discordances entre méthodes ont été étudiées à l'aide d'analyses complémentaires réalisées par un laboratoire externe utilisant des PCR spécifiques en routine.

Les résultats sont rassemblés dans le tableau ci-dessous.

Cible	Méthode Référence	ParaGENIE assay			
		Positif	Negatif	Sensibilité	Spécificité
<i>Cryptosporidium</i>	Positif (n=57)	53	4	93.0%	100.0%
	Négatif (n=66)	0	66		
<i>E. bieneusi</i>	Positif (n=37)	36	1	97.3%	98.7%
	Négatif (n=77)	1	76		
<i>E. intestinalis</i>	Positif (n=0)	0	0	-	100.0%
	Négatif (n=114)	0	114		

Aucun *E. intestinalis* n'a été identifié au cours de cette étude. Néanmoins, le kit « ParaGENIE *Crypto-Micro* PCR » a détecté avec succès l'ADN de *E. intestinalis*, extrait à partir de cultures cellulaires infectées.

Un seul échantillon (0.8%) n'a pas pu être analysé en raison de la trop forte présence d'inhibiteurs de PCR.

Ces travaux ont été présentés au congrès de la SFMM 2018.

Limitations

- L'usage de réactifs est limité exclusivement au Diagnostic *in vitro*
- Pour des résultats optimaux, il est nécessaire d'utiliser le kit en toute conformité avec le guide utilisateur.
- Ce test a été validé pour un usage à partir d'échantillons cliniques de selles.
- Ce mix qPCR a été validé à partir d'éluats d'ADN extraits à l'aide du kit « ParaGENIE Stool DNA extraction Kit » (#60403).
- Ce test a été validé pour une utilisation avec les instruments qPCR LC480 II (ROCHE), CFX96 (BIORAD) et ABI7500 (Applied Biosystems).

References

¹Bouzid M., Hunter P., Chalmers R.M., Tyler K.M. (2013) Cryptosporidium Pathogenecity and Virulence, Clin. Microbiol Rev. 26:115-134.

²Gordon J Leitch, and Qing He (2011), Cryptosporidiosis – an overview. J Biomed Res. 25(1): 1-16.

³Anane S., Attouchi H. (2010), Microsporidiosis: Epidemiology, clinical data and Therapy. Gastroenterologie clinique et biologique. 34: 450-464.

⁴ Garcia LS (2002) Laboratory identification of the microsporia, J.Clin. Microbiol. 40: 1892-1901.

⁵Vasoo S., Bobbi S Pritt (2013) Molecular Diagnostic and Parasitic Disease, Clin Lab Med 33: 461-503.

⁶Verweij J.J, Stensvold C.R (2014) Molecular testing for clinical diagnosis and epidemiological investigations of intestinal parasitic infections Clin Microbiol Rev 27:371-418.

Information commerciale

- Kits d'Ademtech

Cat N°	PRODUIT	FORMAT
60402	ParaGENIE Stool DNA Collection Kit	1x40
60403	ParaGENIE Stool DNA Extraction Kit AutoMag One	1x48
60405	ParaGENIE Crypto-Micro Real-Time PCR Kit	1x24
60900	Extraction Control	1x48

- Instruments et consommables

Cat N°.	PRODUIT	FORMAT
21106	Instrument AutoMag Solution	1pcs
21102	Plaque Deep Well 96	50pcs
21103	Peigne 12-broches	50pcs
21600	Instrument AutoMag One	1pcs
21601	AutoMag One Tips	100pcs

Symboles

REF Code produit

LOT Numéro de lot.

Ce symbole est accompagné du numéro de lot du fabricant.

 **Fabricant**

Ce symbole s'accompagne du nom et de l'adresse du fabricant du produit.

 **Date Limite d'utilisation**

Ce symbole s'accompagne de la date limite d'utilisation du produit.

 **Symbol pour le marquage CE**

Ce symbole certifie que le produit est conforme à la réglementation européenne.

 **Contenu suffisant pour (n) tests**

IVD **Dispositif médical de diagnostic *in vitro***

Symbol pour les dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*.

 **Limites de température**

Symbol utilisé pour les limites ou gammes de températures. Les limites hautes et basses sont indiquées en face des repères horizontaux.

Informations au client

L'acquisition de ce produit autorise l'acheteur à utiliser ce produit dans un but de services diagnostiques dans le domaine du diagnostic *in vitro* humain. Aucun brevet d'ordre général ou aucune autre licence autre que ce droit d'utilisation spécifique concédé à l'achat n'est ici autorisé.

Cepheid® et SmartCycler® sont des marques déposées par Cepheid.

Applied Biosystems® 7500 est une marque déposée par Life technologies.

Roche LightCycler® sont des marques déposées par Roche Diagnostics.