Kit de génotypage APO-Easy®

INSTRUCTIONS D'UTILISATION

REF FLS-OE-02

Pour une utilisation dans le cadre d'un diagnostic *in vitro* uniquement

Non destiné à un usage thérapeutique

Version : 3.4

Date d'émission : 21/05/2024

Langue : français

Version	Modifications principales
3.1	Première version
3.2	Ajout de la section des représentants autorisés
3.3	Modification de l'Organisme Notifié
3.4	Modification de l'intervalle du test et ajout d'une nouvelle référence pour l'instrument de qPCR QS5 Dx

CE 0459 IVD

Σ 32

Firalis SA
35 rue du Fort
68330 – Huningue FRANCE

Téléphone : +33 389 911 320
E-mail : contact@firalis.com
Site Internet : www.firalis.com

Contenu :

1. Utilisation prévue 5
2. Introduction 5
3. Principes du test 6
4. Instruments et matériel 6
4.1. Réactifs et matériaux fournis avec le kit 7
4.2. Matériel divers et équipement nécessaires 8
4.3. Exigences de conservation et durée de conservation du kit 8
5. Extraction et quantification de l'ADN génomique (ADNg) 8
5.1. Extraction 8
5.2. Quantification 8
6. Procédure de test de génotypage APO-Easy® 9
6.1. Étape 1 Préparation de la réaction PCR pour génotypage en temps réel 9
6.2. Étape 2. Analyse qPCR 11
6.3. Étape 3 Analyse du résultat 13
6.4. Étape 4 Interprétation 15
7. Dépannage 15
8. Paramètres analytiques 17
9. Performance clinique 18
10. Risques résiduels et avertissements 18
11. Limites de la procédure 20
12. Recommandations en matière de sécurité chimique 21
13. Conseils techniques 21
14. Responsabilité 22
Assistance technique 22
Avertissement concernant le rapport d'incidents graves 22
Résumé de sécurité et de performance 23
Références 23
Légende des symboles utilisée dans les instructions d'utilisation et sur les étiquettes du kit 25
Représentants autorisés 26

Tableaux :

Tableau 1. Référence de l'équipement nécessaire pour la réalisation d'un test via le kit de génotypage APO-Easy® 7
Tableau 2. Référence du kit d'extraction d'ADNg recommandé (non fourni avec le kit de génotypage APO-Easy®). 7
Tableau 3. Contenu du kit de génotypage APO-Easy®. 7
Tableau 4. Présentation du déroulement du test de génotypage APO-Easy. 9
Tableau 5. Présentation de modèle d'une plaque à 96 puits pour génotypage APOE de 24 échantillons, 3 témoins/SNP en double exemplaire et 2 NTC/SNP pour le kit de génotypage APO-Easy® 10
Tableau 6. Correspondance de standard pour détermination de SNP lors du test de génotypage APO-Easy 10
Tableau 7. programme d'analyse qPCR dans le dispositif QS5. 12
Tableau 8. Interprétation du génotype des résultats des SNP rs429358 et 7412. 15
Tableau 9. Recommandations en matière de dépannage du kit de génotypage APO-Easy. 16
Tableau 10 Le test de génotypage APO-Easy offre une précision de 100 % 18
Tableau 11 Comparaisons des génotypes entre les sujets présentant la MA et ceux ne présentant pas la MA + témoins en bonne santé 18

Figures :

Figure 1. schéma du gène APOE humain et des polymorphismes à 2 mononucléotides résultant en 3 allèles : ε2, ε3 et ε4. 6
Figure 2. Sélection du type de test dans les propriétés de test sur le logiciel QS5. S'assurer de sélectionner « génotypage » (flèche rouge). 11
Figure 3. Configuration du SNP pour le kit de génotypage APO-Easy sur le logiciel QS5. 12
Figure 4. Page de résultats de l'analyse qPCR sur le logiciel QS5. La flèche rouge indique le type de résultat à sélectionner (Discrimination allélique) et la flèche verte indique l'icône pour sélectionner les SNP. 13
Figure 5. Schéma des signaux des standards pour le SNP rs429358 (mélange mère 1) après l'analyse qPCR. 14
Figure 6. Schéma des signaux des standards pour le SNP rs7412 (mélange mère 2) après l'analyse qPCR. 14
Figure 7. Interprétation des résultats sur le logiciel QS5. La flèche rouge indique l'icône interprétant le signal, et la flèche verte indique le statut du patient pour chaque SNP déterminé par le logiciel après l'analyse des résultats. 15

Liste des abréviations :

SNP : polymorphismes mononucléotidiques

ADNg : acide désoxyribonucléique génomique

APOE : apolipoprotéine E

MA : maladie d'Alzheimer

qPCR : réaction en chaîne qualitative par polymérase en temps réel

DIV : diagnostic in vitro

QS5-Dx : système de PCR en temps réel QuantStudio 5 Dx

NTC : témoin sans matrice

MUT : mutant

WT : type sauvage

Het : hétérozygote

FCR : force centrifuge relative

°C : degré Celsius

ng : nanogramme

µl : microlitre

STD : standard

IFU : instructions d'utilisation

FDS : fiches de données de sécurité

1. Utilisation prévue

Le kit de génotypage APO-Easy® est un test qualitatif de diagnostic in vitro destiné à la détection de deux polymorphismes mononucléotidiques (SNP) (rs429358 et rs7412) dans l'ADN génomique humain. Il permet la détermination de six génotypes d'apolipoprotéine E (APOE), e2/e2, e2/e3, e3/e3, e2/e4, e3/e4 et e4/e4, à partir d'un test RT-PCR.

Le résultat du test de génotypage APO-Easy® est destiné à être utilisé par les médecins, en plus d'autres examens cliniques, afin de permettre l'évaluation du niveau de risque de développement de la maladie d'Alzheimer (MA) chez un individu. Un individu ayant des allèles ε2 présente le plus faible risque de développement d'une MA, signe de l'effet protecteur de cet allèle. La présence d'allèles ε3 est observée principalement chez les individus normaux et n'altère pas le risque de développement de la MA. Un individu ayant un allèle ε4 unique (e2/e4 ou e3/e4 hétérozygote) présente un risque élevé de développement d'une MA, en comparaison avec les autres génotypes de l'APOE sans e4 (e2/e2, e2/e3 et e3/e3). La présence d'allèles ε4 doubles (e4/e4 homozygote) est associée au risque le plus élevé de développement de la MA, en comparaison avec tous les autres génotypes de l'APOE.

Conditions d'utilisation :

- Utilisation sous prescription
- Pour une utilisation chez l'adulte (de plus de 18 ans)
- Pour une utilisation en laboratoire de diagnostic moléculaire par des opérateurs qualifiés
- Ce test ne constitue pas une méthode automatisée
- Le test ne peut pas être réalisé par le patient à domicile. Il ne s'agit pas d'un dispositif au point de soins ni d'un dispositif de test en auto-administration
- Ce test n'est pas destiné à remplacer des examens cliniques et diagnostiques.

2. Introduction

L'apolipoprotéine E (APOE) est un chylomicron exprimé dans divers organes comme le foie, le cerveau, la rate, les reins, les glandes génitales, les glandes surrénales et les macrophages (Marias, 2019). L'importance de l'APOE a été démontrée pour divers processus comme le métabolisme des lipoprotéines, des vitamines liposolubles et du glucose / de l'énergie, ainsi que pour la transduction du signal, la métastase et l'angiogénèse. Importante dans le métabolisme lipidique, l'APOE est impliquée dans les maladies cardiovasculaires car requise pour le catabolisme normal des composants des lipoprotéines riches en triglycérides (Semaev et al., 2022). L'importance de l'APOE dans la pathogénie des troubles neurodégénératifs comme la démence frontotemporale, la maladie de Parkinson, la démence à corps de Lewy et la maladie d'Alzheimer (MA) a été bien documentée (Davis et al., 2020; Mishra et al., 2017).

Le gène APOE présente trois allèles communs (ε2, ε3 et ε4) et six génotypes associés (ε3ε3, ε3ε2, ε2ε2, ε3ε4, ε4ε4 et ε2ε4) [Su et al., 2017]. Les isoformes correspondantes sont caractérisées par des acides aminés en positions 112 et 158, et déterminent l'affinité pour les récepteurs des lipoprotéines. APOE ε3 est l'allèle le plus courant qui n'augmente ni ne diminue le risque de développement de la MA. L'effet protecteur de l'APOE ε2 contre le développement de la MA a été démontré (Ohm et al., 1999), tandis que l'APOE ε4 permet la réduction de la clairance du peptide beta-amyloïde (Aβ) qui

entraînait l'augmentation du dépôt de Aβ dans les neurones chez le modèle de souris présentant la MA (Yamazaki et al., 2019). Environ 25 % des individus sont porteurs d'une copie d'APOE ε4, et 2 à 3 % sont porteurs de deux copies (https://www.nia.nih.gov/health/alzheimers-disease-genetics-fact-sheet). Mayeux et al., 1998 ont étudié 2 188 patients présentant la MA et ont montré que la présence du génotype APOE ε4 améliore la spécificité du diagnostic de MA, lorsqu'elle est associée à des critères cliniques. Plusieurs études ont mis en évidence le fait que le génotype APOE ε4 est associé à une apparition tardive des formes familières et sporadiques de la MA (Corder et al., 1993, Schmechel et al., 1993, Strittmatter et al., 1993, Farrer et al., 1997, Bu G., 2009).

Le kit de génotypage APO-Easy® utilise une technique de réaction en chaîne qualitative par polymérase (qPCR) en temps réel pour déterminer la mutation *in vitro* de deux polymorphismes mononucléotidiques (SNP) de l'APOE : rs429358 et rs7412. Ce test de DIV implique l'utilisation de sondes avec marquage fluorescent (FAM et VIC) permettant une discrimination allélique et la détermination des génotypes APOE.

3. Principes du test

Le kit de génotypage APO-Easy® inclut des réactifs nécessaires à la réalisation d'une analyse qPCR pour l'évaluation de l'ADN génomique (ADNg) extrait des échantillons d'ADN PAXgene, afin de déterminer les génotypes d'APOE. Le test permet d'évaluer 2 SNP (rs429358 et rs7412) dans le gène APOE, et contient un témoin positif pour chaque SNP (type sauvage, mutant et hétérozygote). Le génotype est déterminé en fonction du statut mutationnel pour les deux mutations analysées, et représente l'un des six génotypes possibles (ε3ε3, ε3ε2, ε2ε2, ε3ε4, ε4ε4 et ε2ε4).

Pour l'allèle de type sauvage (ApoE3), les acides aminés cystéine en position 112 et arginine en position 158 sont détectés. La mutation ApoE4 (SNP rs429358) a un impact sur l'acide aminé en position 112, entraînant une transition de thymine en cytosine et induisant la traduction de l'arginine en cystéine. La mutation ApoE2 (SNP rs7412) a quant à elle un impact sur l'acide aminé en position 158, entraînant une transition de cytosine en thymine et induisant la traduction de cystéine en arginine (Figure 1).

Figure 1. schéma du gène APOE humain et des polymorphismes à 2 mononucléotides résultant en 3 allèles : ε2, ε3 et ε4.

4. Instruments et matériel

Le kit de génotypage APO-Easy® inclut des consommables pour la réalisation de l'amplification par qPCR et la détection fluorogénique des mutations APOE à l'aide du système ThermoFisher QS5-Dx (équipement non fourni avec le kit). L'équipement nécessaire pour le test mais non fourni avec le kit, ainsi que ses références, sont mentionnés dans le tableau 1.

Tableau 1. Référence de l'équipement nécessaire pour la réalisation d'un test via le kit de génotypage APO-Easy®

Instrument	Fin	Fabricant	Numéro de référence	Certifications
Nanodrop 2000/2000c	Quantification de l'ADNg	ThermoFisher	ND-2000	UL/CSA et CE
QS5-Dx	qPCR	ThermoFisher	A31928/A47324	FDA 510K (K190302)

Pour l'extraction de l'ADNg à partir de tubes de sang entier PAXgene, Firalis recommande l'utilisation de la référence mentionnée dans le tableau 2 en suivant les instructions du fabricant fournies avec le kit.
Si une autre référence est utilisée, Firalis ne peut garantir les résultats ni la performance du test. Les échantillons doivent être recueillis dans le tube d'ADN de sang PAXgene® (BD Biosciences, référence : 761165), selon les instructions d'utilisation fournies par le fabricant de tubes de prélèvement.

Tableau 2. Référence du kit d'extraction d'ADNg recommandé (non fourni avec le kit de génotypage APO-Easy®).

Description	Fabricant	Fin	Conservation	Référence	Quantité
Mini kit d'ADN sanguin QIAamp DSP	Qiagen	Extraction d'ADNg	Selon la recommandations du fournisseur	61104	1 kit / 50 échantillons

4.1. Réactifs et matériaux fournis avec le kit

Le kit de génotypage APO-Easy® contient des mélanges mères prêts à l'emploi pour 32 réactions par SNP, des témoins positifs (standard A, standard B, standard C, standard D, standard E) et un flacon de témoin sans matrice (NTC). Un total de 32 réactions est possible grâce aux réactifs d'un kit incluant 6 réactions pour les standards et 2 NTC pour chaque SNP, et pour chaque analyse (tableau 3).

Tableau 3. Contenu du kit de génotypage APO-Easy®.

Description	Conservation	Référence	Quantité (32 réactions)
Mélange mère 1 pour génotypage TaqMan™ rs429358	-15° C à -25 °C	FLS-MM1OE-02	1 flacon
Mélange mère 2 pour génotypage TaqMan™ rs7412	-15° C à -25 °C	FLS-MM2OE-02	1 flacon
Témoin sans matrice (NTC)	-15° C à -25 °C	FLS-NTC-01	1 flacon
Standard A : mutant (MUT) rs7412	-15 °C à -25 °C	FLS-OE2S-01	1 flacon

Standard B : type sauvage (WT) rs429358 et rs7412	-15 °C à -25 °C	FLS-OE3S-01	1 flacon
Standard C : mutant (MUT) rs429358	-15 °C à -25 °C	FLS-OE4S-01	1 flacon
Standard D : hétérozygote (Het) rs7412	-15 °C à -25 °C	FLS-OE23S-01	1 flacon
Standard E : hétérozygote (Het) rs429358	-15 °C à -25 °C	FLS-OE34S-01	1 flacon

* Témoins positifs : standard A, standard B, standard C, standard D, standard E. Témoins négatif : NTC

4.2. Matériel divers et équipement nécessaires

- Eau sans nucléase
- Utiliser uniquement des embouts de pipette sans nucléase et des tubes de microcentrifugation certifiés.
- Pipettes de précision – pipette multicanaux
- Laboratoire de biosécurité BSL2
- Microcentrifugeuse (force centrifuge relative (FCR) 17 000)
- Vortex et microcentrifugeuse
- Plaques pour PCR en temps réel
- Centrifugeuse de plaques PCR

4.3. Exigences de conservation et durée de conservation du kit

- Le kit doit être conservé à une température de -20 °C.
- Les composants du kit peuvent être décongelés et congelés trois fois et rester stables. Dépasser le cycle de congélation et décongélation pourrait diminuer la fonctionnalité du kit.
- Le kit est stable jusqu'à sa date d'expiration figurant sur l'étiquette de la boîte.

5. Extraction et quantification de l'ADN génomique (ADNg)

5.1. Extraction

L'extraction d'ADNg à partir de sang humain entier recueilli dans des tubes d'ADN de sang PAXgene à l'aide du mini kit d'ADN sanguin QIAamp DSP, tel que mentionné dans le tableau 2 en suivant la fiche d'instructions d'utilisation fournie avec le kit.

5.2. Quantification

La quantification de l'ADNg extrait est réalisée à l'aide de Nanodrop. Les échantillons doivent avoir une concentration minimum de 6,25 ng/µl et une concentration maximum de 50 ng/µl. Si les échantillons présentent une concentration supérieure à la concentration recommandée, ils doivent être dilués dans de l'eau sans nucléase (grade moléculaire). Si les échantillons présentent une concentration inférieure

à la quantité requise, il est recommandé d'utiliser une quantité de 2 µl au total. **La quantité d'ADNg utilisée pour le test de génotypage APO-Easy® est comprise entre 12.5 et 100 ng.**

6. Procédure de test de génotypage APO-Easy®

La présentation du déroulement du test de génotypage APO-Easy est indiquée dans le tableau 4. La durée requise pour le test de 2 h 30.

Tableau 4. Présentation du déroulement du test de génotypage APO-Easy.

Déroulement	
Étape 1	Préparation de la réaction PCR pour génotypage en temps réel
Étape 2	Analyse qPCR
Étape 3	Analyse du résultat
Étape 4	Interprétation

6.1. Étape 1 Préparation de la réaction PCR pour génotypage en temps réel

Le kit comprend deux mélanges mères de génotypage TaqMan™ prêts à l'emploi pour évaluer deux SNP (rs429358 et rs7412), de l'eau sans nucléase pour le NTC, et des standards pour reproduire les conditions « type sauvage, mutant et hétérozygote » pour chaque polymorphisme mononucléotidique (SNP).

Chaque mélange mère est un test Dualplex évaluant le SNP en question :

Mélange mère 1 : composé de 2 sondes pour évaluer le SNP rs429358 et permettre une discrimination allélique pour le nucléotide de type sauvage (T), le nucléotide mutant C, ainsi que pour la forme hétérozygote.

Mélange mère 2 : composé de 2 sondes pour évaluer le SNP rs7412 et permettre une discrimination allélique pour le nucléotide de type sauvage (C), le nucléotide mutant T, ainsi que pour la forme hétérozygote.

Standards A, B, C, D et E :
Chaque standard (STD) est une matrice ADN destinée à reproduire les trois allèles et la combinaison de différents modèles ADN reproduisant la condition hétérozygote.

Standard A : modèle ADN de l'allèle ApoE2
Standard B : modèle ADN de l'allèle ApoE3
Standard C : modèle ADN de l'allèle ApoE4
Standard D : modèle ADN des allèles ApoE2 et ApoE3
Standard E : modèle ADN des allèles ApoE3 et ApoE4

Remarque : décongeler les mélanges mères et les standards sur de la glace. Bien mélanger les réactifs, centrifuger brièvement et les placer sur de la glace.

1. Transférer 23 µl/puit du mélange mère du test de détection sur une plaque de 96 puits (pour chaque échantillon, un mélange mère correspondant aux deux SNP doit être ajouté).
2. Ajouter 2 µl d'ADNg ou les standards dans les puits correspondants et centrifuger brièvement. La quantité totale de l'ADNg dans une réaction doit être comprise entre 12,5 et 100 ng.

- Chaque SNP individuel **requiert une analyse des standards WT, MUT et HET**, ainsi que **NTC** (grade moléculaire de l'eau sans nucléase). Un plan de présentation du modèle pour l'analyse de 24 échantillons d'ADN PAXgene maximum mesurée pour 2 SNP dans une plaque de PCR à 96 puits est illustré dans le tableau 5.
- Remarque : le kit de génotypage APO-Easy permet la réalisation de 32 réactions qPCR maximum. Chaque mélange mère est pour 8 STD et jusqu'à 24 échantillons. Si un plus petit nombre d'échantillons doit être évalué, le kit peut être utilisé deux fois. Par exemple, 8 STD et 8 patients peuvent être évalués une fois, puis 8 STD et 8 patients peuvent être évalués la seconde fois.

Tableau 5. Présentation de modèle d'une plaque à 96 puits pour génotypage APOE de 24 échantillons, 3 témoins/SNP en double exemplaire et 2 NTC/SNP pour le kit de génotypage APO-Easy®.

	APOE (rs429358)						APOE (rs7412)					
	Recueil 1	Recueil 2	Recueil 3	Recueil 4	Recueil 5	Recueil 6	Recueil 7	Recueil 8	Recueil 9	Recueil 10	Recueil 11	Recueil 12
A	STD B : WT	Échantillon nº 1	Échantillon nº 9	Échantillon nº 17			STD B : WT	Échantillon nº 1	Échantillon nº 9	Échantillon nº 17		
B	STD B : WT	Échantillon nº 2	Échantillon nº 10	Échantillon nº 18			STD B : WT	Échantillon nº 2	Échantillon nº 10	Échantillon nº 18		
C	STD C : MUT	Échantillon nº 3	Échantillon nº 11	Échantillon nº 19			STD A : MUT	Échantillon nº 3	Échantillon nº 11	Échantillon nº 19		
D	STD C : MUT	Échantillon nº 4	Échantillon nº 12	Échantillon nº 20			STD A : MUT	Échantillon nº 4	Échantillon nº 12	Échantillon nº 20		
E	STD E : HET	Échantillon nº 5	Échantillon nº 13	Échantillon nº 21			STD D : HET	Échantillon nº 5	Échantillon nº 13	Échantillon nº 21		
F	STD E : HET	Échantillon nº 6	Échantillon nº 14	Échantillon nº 22			STD D : HET	Échantillon nº 6	Échantillon nº 14	Échantillon nº 22		
G	NTC	Échantillon nº 7	Échantillon nº 15	Échantillon nº 23			NTC	Échantillon nº 7	Échantillon nº 15	Échantillon nº 23		
H	NTC	Échantillon nº 8	Échantillon nº 16	Échantillon nº 24			NTC	Échantillon nº 8	Échantillon nº 16	Échantillon nº 24		

- Le STD suivant doit être utilisé pour chaque détermination de SNP tel qu'indiqué ci-dessous. Pour le SNP rs429358 (mélange mère 1), les standards B, C et E doivent être utilisés ; pour l'évaluation du SNP rs7412 (mélange mère 2), les standards B, A et D doivent être utilisés (tableau 6).

Tableau 6. Correspondance de standard pour détermination de SNP lors du test de génotypage APO-Easy.

APOE (rs429358)	APOE (rs7412)
STD B (WT)	STD B (WT)
STD C (MUT)	STD A (MUT)
STD E (HET)	STD D (HET)

3. Agiter la plaque pendant 5 secondes et centrifuger à 500 g pendant 30 secondes.
4. Commencer **l'analyse immédiatement**.

6.2. Étape 2. Analyse qPCR

5. Configuration du système QS5 Dx pour le test de génotypage APO-Easy :

A. Sur la page « Propriétés », attribuer un nom de test et sélectionner « **génotypage** » comme type de test (Figure 2).

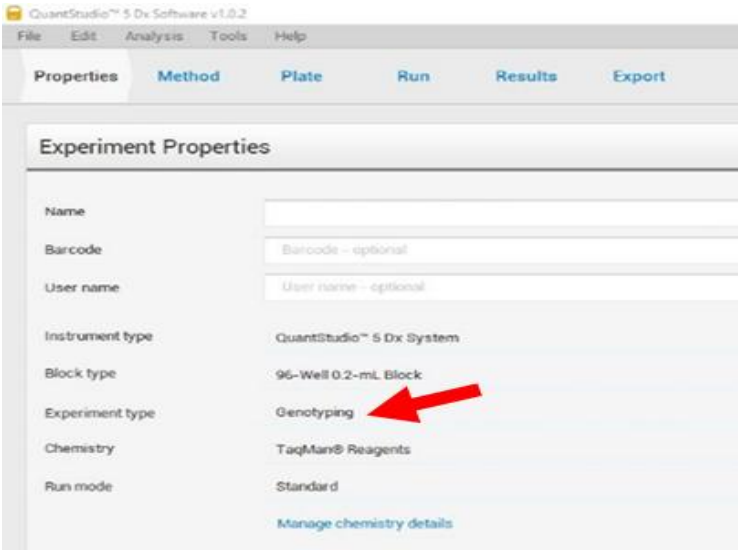

Figure 2. Sélection du type de test dans les propriétés de test sur le logiciel QS5. S'assurer de sélectionner « génotypage » (flèche rouge).

B. Sur la page « Méthode », configurer le volume total de la réaction PCR (**25 µl** du mélange de réaction).

C. Sur la fiche « Plaque », aller dans « Configuration avancée » pour configurer la fluorescence, cliquer sur le bouton « Ajouter (+) » pour obtenir **deux tests SNP** (SNP Test 1 et SNP Test 2). Cliquer sur le bouton « OK » pour continuer. Puis pour chaque test SNP, cliquer sur le bouton « Action » et sélectionner « Modifier » pour indiquer le nom comme suit (figure 3) :

REMARQUE : pour le **test SNP 1 : rs429358** (mélange mère 1). S'assurer d'avoir **Allèle 1** défini avec le fluorochrome émetteur (*reporter*) **VIC**, et **Allèle 2** défini avec le fluorochrome émetteur (*reporter*) **FAM**

Pour le **test SNP 2 : rs7412** (mélange mère 2). S'assurer d'avoir **Allèle 1** défini avec le fluorochrome émetteur (*reporter*) **VIC**, et **Allèle 2** défini avec le fluorochrome émetteur (*reporter*) **FAM**

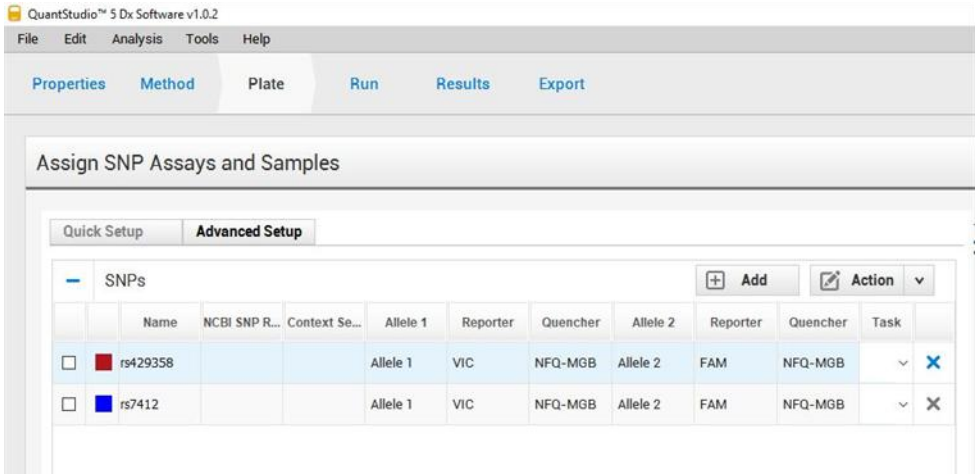

Figure 3. Configuration du SNP pour le kit de génotypage APO-Easy sur le logiciel QS5.

6. Pour définir les standards pour rs429358 (mélange mère 1), sélectionner la colonne 1 dans le modèle de plaque, et sélectionner « Test SNP 1 » (rs429358). Puis sélectionner A1 et B1 (« STD B (WT) ») et attribuer 2/2 dans la barre des tâches. Sélectionner C1 et D1 (« STD C (MUT) ») et attribuer 1/1 dans la barre des tâches. Sélectionner E1 et F1 (« STD E (HET) ») et attribuer 1/2 dans la barre des tâches. Sélectionner G1 et H1, et attribuer N dans la barre des tâches « NTC ».

7. Pour définir les standards pour rs7412 (mélange mère 2), sélectionner la colonne 7 dans le modèle de plaque, et sélectionner « Test SNP 2 » (rs7412). Puis sélectionner A7 et B7 (« STD B (WT) ») et attribuer 1/1 dans la barre des tâches. Sélectionner C7 et D7 (« STD A (MUT) ») et attribuer 2/2 dans la barre des tâches. Sélectionner E7 et F7 (« STD D (HET) ») et attribuer 1/2 dans la barre des tâches. Sélectionner G7 et H7, et attribuer N dans la barre des tâches « NTC ».

8. Pour définir les échantillons pour rs429358 (mélange mère 1), sélectionner les colonnes 2 à 4 dans le modèle de plaque, et sélectionner « Test SNP 1 » (rs429358).

9. Pour définir les échantillons pour rs7412 (mélange mère 2), sélectionner les colonnes 8 à 10 dans le modèle de plaque, et sélectionner « Test SNP 2 » (rs7412).

10. Une fois la plaque prête et la configuration effectuée, aller sur la fiche « Exécuter » et commencer l'analyse.

11. Le programme d'analyse qPCR sera automatiquement sélectionné par le système QS5-Dx et la spécification du programme doit être telle qu'indiquée dans le tableau 7 :

Tableau 7. programme d'analyse qPCR dans le dispositif QS5.

Programme	Température en °C	Durée	Cycles
Activation	95	10 min	
Dénaturation	95	15 s	40
Extension	60	1 min	

6.3. Étape 3 Analyse du résultat

Avant l'analyse des résultats de l'échantillon, vérifier le signal obtenu pour STD avec le test de détection correspondant dans le mode de discrimination allélique. Les résultats de l'analyse qPCR sont disponibles sur la page des résultats du logiciel QS5 Dx (figure 4). Sur cette page, sélectionner « Discrimination allélique » (flèche rouge). La validité de l'analyse doit être évaluée pour chaque mutation séparément. La sélection de rs429358 ou de rs7412 peut être réalisée en cliquant sur l'icône pointé par la flèche verte.

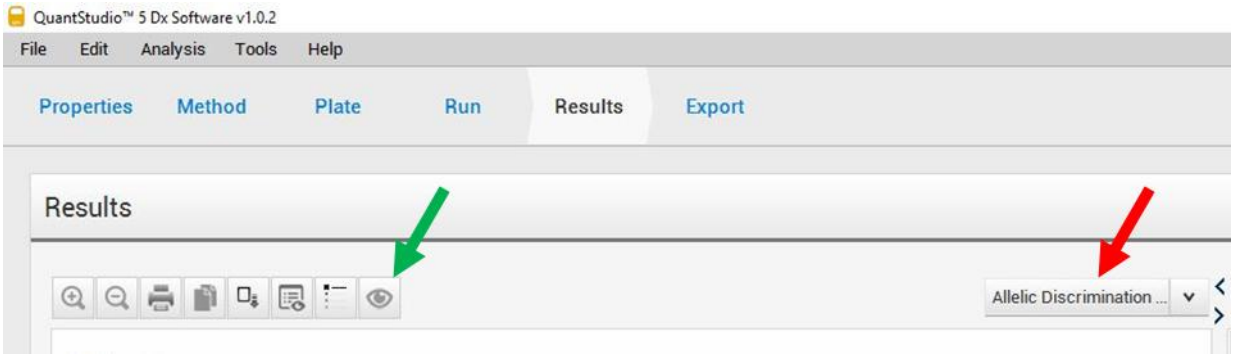

Figure 4. Page de résultats de l'analyse qPCR sur le logiciel QS5. La flèche rouge indique le type de résultat à sélectionner (Discrimination allélique) et la flèche verte indique l'icône pour sélectionner les SNP.

Pour le STD et le NTC, l'analyse peut se poursuivre lorsque les signaux STD correspondent à l'exemple suivant. Veiller à ce que vos standards correspondent à un schéma similaire à la figure 3. Pour rs429358, le signal du type sauvage (WT) se situera dans la partie supérieure gauche du graphique sur l'axe y (allèle 2) correspondant à l'allèle 2/allèle 2 (e3) homozygote. Le standard mutant (MUT) aura un signal proche de l'axe x (allèle 1) dans la partie inférieure droite du graphique correspondant à l'allèle 1/allèle 1 (e4). Le standard hétérozygote se situera entre MUT et WT correspondant à l'allèle 1/allèle 2 (e3/e4) hétérozygote tel que présenté sur la **figure 5**. Le NTC ne génèrera aucun signal et se situera dans la partie inférieure gauche du graphique.

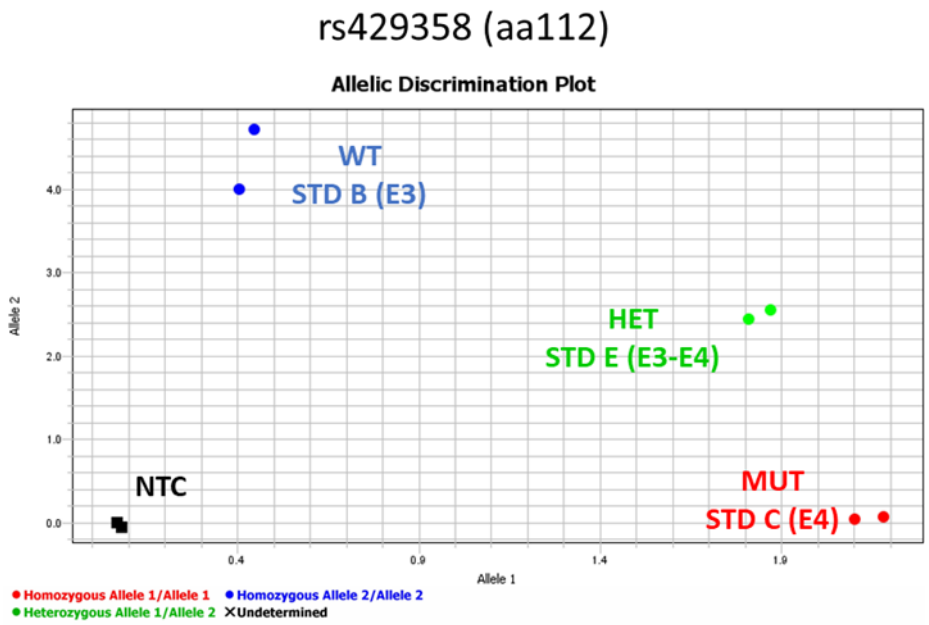

Figure 5. Schéma des signaux des standards pour le SNP rs429358 (mélange mère 1) après l'analyse qPCR.

Pour rs7412, le signal du type sauvage (WT) se situera dans la partie inférieure droite proche de l'axe y du graphique correspondant à l'allèle 1/allèle 1 (e3) homozygote. Le standard mutant (MUT) aura un signal dans la partie supérieure gauche de l'axe-y du graphique correspondant à l'allèle 2/allèle 2 (e2). Le standard hétérozygote se situera entre MUT et WT correspondant à l'allèle 1/allèle 2 (e2/e3) hétérozygote tel que présenté sur la **figure 6**. Le NTC ne génèrera aucun signal et se situera dans la partie inférieure gauche du graphique.

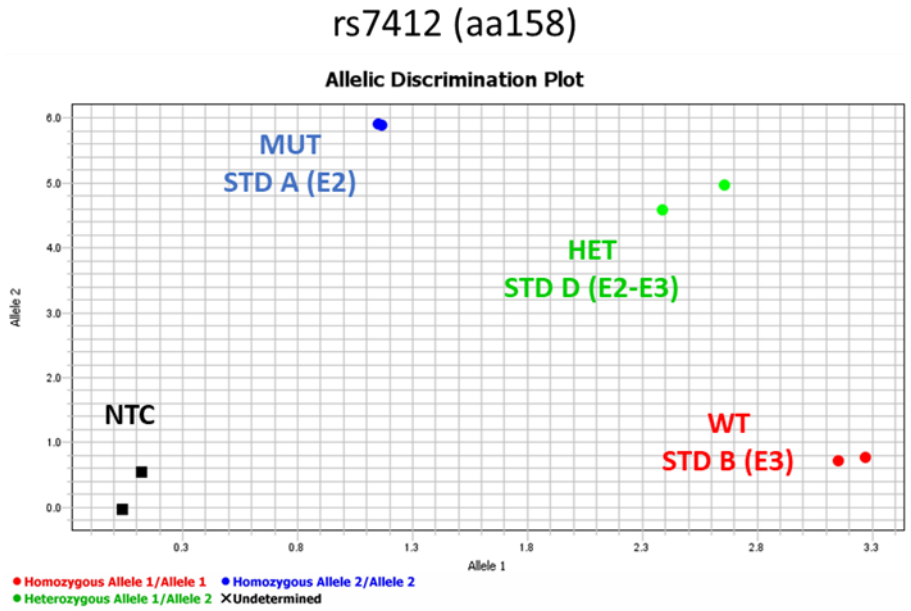

Figure 6. Schéma des signaux des standards pour le SNP rs7412 (mélange mère 2) après l'analyse qPCR.

6.4. Étape 4 Interprétation

Une fois les contrôlés réalisés, les signaux des échantillons sont interprétés en cliquant sur l'icône pointé par la flèche rouge. Pour chaque SNP, le statut du patient est disponible dans la colonne « Appel » (flèche verte ; figure 7).

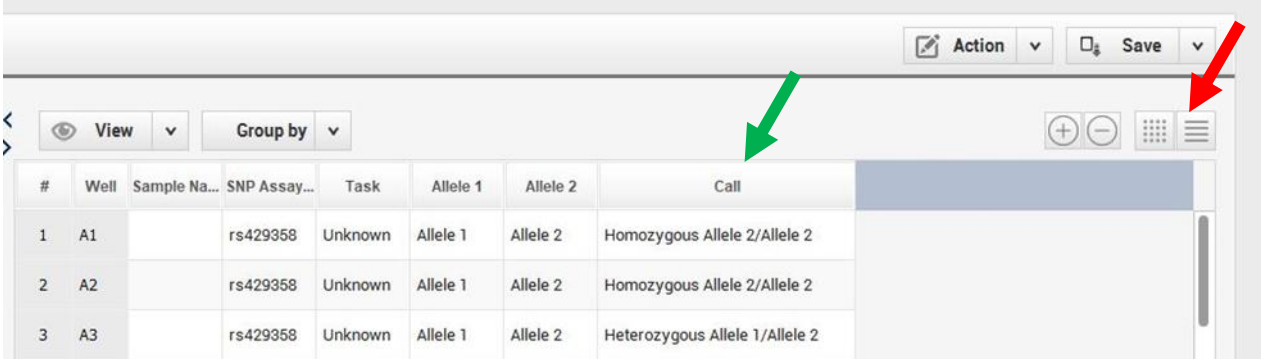

Figure 7. Interprétation des résultats sur le logiciel QS5. La flèche rouge indique l'icône interprétant le signal, et la flèche verte indique le statut du patient pour chaque SNP déterminé par le logiciel après l'analyse des résultats.

Pour rs429358, « Allèle 2 / Allèle 2 homozygote » correspond à WT, « Allèle 1 / Allèle 1 homozygote » à MUT et « Allèle 1 / Allèle 2 hétérozygote » à HET.

Pour rs7412, « Allèle 1 / Allèle 1 homozygote » correspond à WT, « Allèle 2 / Allèle 2 homozygote » à MUT et « Allèle 1 / Allèle 2 hétérozygote » à HET.

Une fois le statut attribué pour chaque SNP, le génotype de l'échantillon peut être déterminé à l'aide du tableau 8 ci-dessous.

Tableau 8. Interprétation du génotype des résultats des SNP rs429358 et 7412.

rs429358	rs7412	Génotype
WT	MUT	e2/e2
WT	HET	e2/e3
WT	WT	e3/e3
HET	HET	e2/e4
MUT	WT	e4/e4
HET	WT	e3/e4

7. Dépannage

- Une évaluation des résultats du test doit être réalisée une fois que les témoins positifs et négatifs ont été examinés et déterminés comme étant valides et acceptables. Si les témoins ne sont pas valides, les résultats de l'échantillon ne peuvent pas être interprétés.
- En cas d'échec du test :
  - Vérifier les dates d'expiration des réactifs individuels et s'assurer que l'ensemble des réactifs ont été conservés comme indiqué sur l'étiquette du produit. Si les conditions de conservation

n'ont pas été suivies scrupuleusement, les résultats ne sont pas fiables et le kit ne peut plus être utilisé.

- S'assurer que les étalonnages des pipettes utilisées sont à jour.
- S'assurer que les paramètres du cycleur sont conformes aux instructions d'utilisation.

Les raisons possibles et mesures correctives relatives à certains des résultats obtenus lors du test sont fournies dans le tableau 9 ci-dessous.

Tableau 9. Recommandations en matière de dépannage du kit de génotypage APO-Easy.

Résultats	Raisons possibles et mesures correctives
Aucun appel dans tous les canaux pour un échantillon	Cause possible : problèmes liés à la qualité de l'ADNg ou à des substances interférentes Recommandation : extraire à nouveau l'échantillon et réaliser à nouveau l'analyse qPCR.
Aucun signal dans un ou deux canaux	Cause possible : s'il ne s'agit que d'un seul échantillon, réaliser à nouveau l'analyse qPCR ; s'il s'agit de l'ensemble des échantillons, vérifier la date d'expiration du kit et les conditions de conservation.
Génotype indéterminé pour un SNP	Cause possible : la quantité d'ADNg n'était pas suffisante. Recommandation : réaliser à nouveau le test. Lors du même test, pour le même échantillon, utiliser 2 µl d'ADNg de l'échantillon avec 23 µl du mélange mère et 4 µl d'ADNg de l'échantillon avec 21 µl du mélange mère.
Une fois le nouveau test réalisé, le génotype est toujours indéterminé.	Cause possible : présence d'une substance interférente dans l'échantillon. Recommandation : l'ajout de K2EDTA dans le tube d'ADN PAXgene pourrait interférer avec le génotypage de l'échantillon ; veuillez vérifier si de l'EDTA a été ajouté dans le tube ou si le volume de l'échantillon de sang a été correctement recueilli conformément aux instructions d'utilisation du fabricant. - Le taux de triglycérides dans le sang ne doit pas dépasser la concentration physiologique (concentration sanguine selon une fourchette normale : 0,5-1,5 g/l). La présence d'un taux de triglycérides excessif dans l'échantillon de sang peut interférer avec le génotypage correct du patient. - Le taux d'albumine ne doit pas dépasser la concentration physiologique (concentration sanguine selon une fourchette normale : 35-50 g/l). Si le taux d'albumine dans l'échantillon de sang du patient dépasse cette

	concentration, cela pourrait interférer avec les résultats du génotypage. Si le problème persiste, contacter l'assistance technique.
Les témoins n'ont pas de signal.	Confirmer que les conditions de conservation et les instructions fournies ont été respectées. Un problème lié au pipetage a pu survenir. Recommandation : réaliser à nouveau le test. Si aucun signal n'est observé, contacter l'assistance technique.
Signal dans le NTC	Cause possible : le mélange de réaction a probablement été contaminé par un modèle. Recommandation : réaliser à nouveau l'analyse qPCR. Si le problème persiste, ne plus utiliser le kit et contacter l'assistance technique.

8. Paramètres analytiques

Précision : le kit de génotypage APO-Easy® permet une détection précise à 100 % des génotypes APOE en comparaison avec les méthodes de référence (séquençage bidirectionnel de Sanger et séquençage de nouvelle génération).

Sensibilité : le test de génotypage APO-Easy® permet de détecter 12,5 ng d'ADNg humain lorsqu'il est utilisé avec le système PCR en temps réel QuantStudio 5 Dx.

Précision : le kit de génotypage APO-Easy® est reproductible avec 100 % de concordance positive lors de tests sur des lots différents ou d'une utilisation par des opérateurs différents.

Interférences : un excès d'éthanol jusqu'à 20 %, un excès de bilirubine jusqu'à 200 mg/ml, un excès de K2EDTA jusqu'à 20 mg/ml, un excès d'albumine jusqu'à 25 g/l, un excès d'hémoglobine jusqu'à 100 g/l ou un excès de triglycérides jusqu'à 18,2 g/l dans l'échantillon **n'entrave pas** les résultats du génotypage.

9. Performance clinique

Le kit de génotypage APO-Easy répond à son utilisation prévue car il présente 100% de concordance positive lorsque les résultats du test sont comparés au séquençage bidirectionnel Sanger et au séquençage ciblé de nouvelle génération.

Tableau 10 Le test de génotypage APO-Easy offre une précision de 100 %

Génotype APOE	APO-Easy®	NGS ciblé	Appels de génotype corrects	Précision	Séquençage de Sanger	Appels de génotype corrects	Précision
e3/e3	25	25	25	100	25	25	100
e4/e4	21	21	21	100	21	21	100
e2/e4	6	6	6	100	6	6	100
e3/e4	23	23	23	100	23	23	100
e2/e3	21	21	21	100	21	21	100

Lorsque les fréquences des génotypes APOE des sujets présentant la maladie d'Alzheimer ont été comparées à celles observées chez des sujets ne présentant pas la maladie d'Alzheimer et des sujets témoins en bonne santé, la présence de deux copies de l'allèle ε4 (homozygote e4/e4) a augmenté le risque de MA de 48,56 fois par rapport à e2/e3. La présence d'une copie de l'allèle ε4 a augmenté le risque de MA de 9,54 fois et de 5,78 fois pour les formes hétérozygotes e3/e4 et e2/e4 respectivement, par rapport à la forme e2/e3.

Tableau 11 Comparaisons des génotypes entre les sujets présentant la MA et ceux ne présentant pas la MA + témoins en bonne santé

	Groupe			
Génotype	**MA (n = 234)**	**Non-MA + témoins en bonne santé (n = 302)**	**RC [IC 95 %]**	**p**
e2/e2	0 (0)	1 (0,33)	1,47 [0,05-39,32]	0,8181
e2/e3	8 (3,42)	37 (12,25)	1 (réf.)	
e2/e4	5 (2,14)	4 (1,32)	5,78 [1,26-26,45]	0,0237*
e3/e3	80 (34,19)	208 (68,87)	1,78 [0,79-3,98]	0,1616
e3/e4	99 (42,31)	48 (15,89)	9,54 [4,12-22,06]	< 0,0001*
e4/e4	42 (17,95)	4 (1,32)	48,56 [13,52-174,49]	< 0,0001*

10. Risques résiduels et avertissements

La conception du kit de génotypage APO-Easy® et ses caractéristiques de performance ont été optimisées par des tests complets en interne et entre les mains d'utilisateurs prévus, tel que vérifié lors de tests chez des populations représentatives de la population de patients visée. D'après Firalis, la société de fabrication, les risques qui demeurent pour les utilisateurs et les patients sont minimes et acceptables pour des tests génétiques.

- Des résultats négatifs n'impliquent pas une absence de risque pour la santé et ne doivent pas être utilisés comme seule base des décisions de prise en charge des patients.
- Les résultats négatifs et positifs doivent être combinés aux observations cliniques, aux antécédents du patient, ainsi qu'à d'autres informations relatives aux tests.

Les risques d'utilisation du kit de génotypage APO-Easy sont minimes si le test est utilisé tel que prévu. Les utilisateurs peuvent davantage réduire le risque en suivant les recommandations ci-dessous :

Contamination des échantillons : la contamination des échantillons par de l'ADN étranger ou des éventuels interférents peut entraîner des résultats inexacts. L'utilisation d'espaces de travail propres, de gants jetables et d'un équipement dédié pour la préparation des échantillons permettra d'atténuer ce risque résiduel.

Contamination croisée : toute manipulation inappropriée de réactifs ou d'échantillons peut entraîner une contamination croisée entre les échantillons, entraînant des résultats erronés. Il convient de maintenir des zones de travail séparées pour la préparation des échantillons, l'extraction de l'ADN et la configuration de la PCR, et de travailler dans un environnement propre lors de la manipulation des pipettes et de tout autre équipement afin d'empêcher toute contamination croisée.

Lecture des résultats : l'interprétation des résultats par des utilisateurs inexpérimentés peut être erronée, ce qui entraîne alors des conclusions incorrectes. L'interprétation des résultats du test de génotypage APO-Easy doit être effectuée par un personnel dûment formé afin de minimiser les risques de détermination de résultats incorrects.

Formation inadéquate : les utilisateurs ne disposant pas d'une formation ou d'une expérience suffisante sont plus susceptibles de commettre des erreurs dans la configuration et l'interprétation du test. Nous recommandons l'utilisation du test APO-Easy uniquement par du personnel hautement qualifié.

11. Limites de la procédure

- Les réactifs ne sont pas destinés à être utilisés lors de procédures thérapeutiques.
- Il ne s'agit pas d'une méthode automatisée ni d'un dispositif d'auto-test.
- Ce test est destiné à détecter le génotype de l'APOE à partir de tubes d'ADN de sang humain PAXgene, dans la fourchette de détection du test.
- Les résultats obtenus à partir de cet essai doivent être interprétés dans le cadre de l'ensemble des résultats biologiques cliniques pertinents et ne doivent pas être utilisés seuls pour un diagnostic.
- Toute contamination de matériaux génomiques par des sources externes doit être évitée à travers une manipulation soigneuse des échantillons, des réactifs du kit et un environnement de travail propre.
- Les opérateurs doivent éviter tout contaminant microbien lors des procédures et ne doivent pas utiliser les composants du kit si des signes de croissance microbienne sont observés.
- Ce kit est destiné à être utilisé avec le système PCR en temps réel QS5-Dx (ThermoFisher).
- Le respect scrupuleux des recommandations fournies avec les instructions d'utilisation du kit de test est essentiel pour obtenir des résultats optimaux.
- Une attention particulière doit être accordée aux dates d'expiration et aux conditions de conservation pour chaque boîte dans le kit. Ne pas utiliser au-delà de la date d'expiration ou en cas de conservation inappropriée.
- Ne pas mélanger ni substituer les réactifs avec ceux d'autres lots ou sources.
- Utiliser uniquement des embouts de pipette sans nucléase et des tubes de microcentrifugation certifiés.
- Utiliser une eau sans nucléase conservée dans des contenants propres.
- Tout écart dans le processus décrit dans les instructions d'utilisation peut entraîner des variations du résultat.
- Le génotypage APO-Easy® n'est pas destiné à prédire ou détecter une réponse au traitement, ni à aider au choix du traitement optimal pour les patients.

12. Recommandations en matière de sécurité chimique

Pour minimiser les risques liés aux produits chimiques :

- Lire et comprendre la Fiche de données de sécurité (FDS) fournie par le fabricant de produits chimiques avant de conserver, manipuler ou travailler avec des produits chimiques ou des substances dangereuses.
- Éviter tout contact direct avec des produits chimiques.
- Porter des équipements de protection individuelle appropriés lors de la manipulation de produits chimiques, tel que des gants ou des lunettes de sécurité, ainsi que des vêtements de protection.
- Éviter toute inhalation de produits chimiques. Ne pas fumer et ne pas laisser les conteneurs de produits chimiques ouverts. Utiliser uniquement avec une ventilation appropriée ou une hotte de vapeur.
- Pour obtenir des recommandations additionnelles en matière de sécurité, consulter la FDS.
- Vérifier régulièrement l'absence de fuites ou de déversements de produits chimiques. En cas de fuite ou de déversement, suivre les procédures de nettoyage du fabricant recommandées sur la FDS.
- Respecter l'ensemble des lois et règlementations locales/nationales concernant la conservation, la manipulation et la mise au rebut de produits chimiques.

13. Conseils techniques

- Pour toute assistance technique relative à l'extraction d'ADN, se reporter à la fiche de données fournie avec le mini kit d'ADN sanguin QIAamp DSP (réf. : 61104) par Qiagen.
- Éviter toute contamination des échantillons et des réactifs. Pour ce faire, changer les embouts à chaque étape. Toute contamination bactérienne ou fongique des réactifs peut entraîner des résultats erronés.
- Mettre au rebut les matériaux consommables et les contenus inutilisés dans des conteneurs appropriés.
- La procédure convient uniquement aux tubes d'ADN PAXgene pour l'extraction de sang total.

14. Responsabilité

- Ce kit est uniquement destiné à la détermination *in vitro* du génotype APOE à partir de sang total humain extraits dans des tubes d'ADN PAXgene.
- Ce kit est uniquement destiné à être utilisé par du personnel qualifié.
- Firalis ne saurait être responsable de tout dommage ou perte consécutif/-ve à une utilisation du kit autre que celle expressément mentionnée dans les présentes instructions.
- Firalis n'est pas responsable des violations de brevet possiblement consécutives à l'utilisation ou la dérivation de ce produit.

Assistance technique

Pour une assistance technique, contacter les services techniques de Firalis SA au +33 389 911 320, consulter le site Internet de Firalis SA : http://www.firalis.com ou écrire à l'adresse : « contact@firalis.com ».

Avertissement concernant le rapport d'incidents graves

Un incident grave est la cause d'un mauvais fonctionnement ou d'une détérioration concernant les caractéristiques ou la performance d'un dispositif, et peut être classé comme au moins l'une des conséquences suivantes :

- Le décès d'un patient, d'un utilisateur ou d'une autre personne
- Une détérioration temporaire ou permanente grave de l'état de santé d'un patient, d'un utilisateur ou d'une autre personne
- Une menace de santé publique grave.

En cas de doute, les utilisateurs doivent toujours réaliser un signalement.

Si vous pensez qu'un incident devant être déclaré est en cause, veuillez contacter le fabricant à l'adresse : clinical@firalis.com. Les coordonnées de l'autorité compétente dans votre pays sont également disponibles ici : https://health.ec.europa.eu/medical-devices-sector/new-regulations/contacts_en.

Lors du signalement d'un incident grave, veuillez rassembler les informations suivantes :

- Nom de marque du dispositif (™ pour Nom de marque, © pour Copyright)
- Nom et adresse du fabricant
- Numéro de lot
- Numéro de série
- Code IUD (identification unique des dispositifs)

- Une description précise et concise de l'incident grave, ainsi que des conséquences graves ou possiblement graves pour le patient, l'utilisateur ou un tiers.

Le dispositif en question ne doit pas être mis au rebut, mais doit être mis à disposition du fabricant pour analyse afin de déterminer les causes de l'incident. Vous pourrez ajouter votre demande de retour lorsque vous contacterez le fabricant pour le signalement de l'incident.

Résumé de sécurité et de performance

Le Résumé de sécurité et de performance du kit de génotypage APO-Easy® a été validé par l'organisme notifié 2797 (groupe BSI) et est rendu public sur le site Internet Eudamed (base de données européenne relative aux dispositifs médicaux) en utilisant le numéro IUD-ID du kit de génotypage APO-Easy® dans la base de données. Cet identifiant est disponible avec le code QR indiqué sur l'étiquette de l'emballage du kit.

Le Résumé de sécurité et de performance sera régulièrement mis à jour avec des informations pertinentes relatives au kit de génotypage APO-Easy®.

Références

1. Marias, A.D. Apolipoprotein E in lipoprotein metabolism, health, and cardiovascular disease. *Pathology* **2019**, *51*, 165–176.

2. Semaev, S.; Shakhtshneider, E.; Shcherbakova, L.; Ivanoshchuk, D.; Orlov, P.; Malyutina, S.; Gafarov, V.; Ragino, Y.; Voevoda, M. Associations of APOE Gene Variants rs429358 and rs7412 with Parameters of the Blood Lipid Profile and the Risk of Myocardial Infarction and Death in a White Population of Western Siberia. Curr. Issues Mol. Biol. 2022, 44, 1713-1724. https://doi.org/10.3390/cimb44040118.

3. Davis AA et al (2020) APOE genotype regulates pathology and disease progression in synucleinopathy. Sci Transl Med:12(529)

4. Mishra A, Ferrari R, Heutink P, Hardy J, Pijnenburg Y, Posthuma D, et al. Gene-based association studies report genetic links for clinical subtypes of frontotemporal dementia. Brain. 2017;140(5):1437–46.

5. Su WH, Shi ZH, Liu SL, Wang XD, Liu S, Ji Y. Updated meta-analysis of the role of APOE ε2/ε3/ε4 alleles in frontotemporal lobar degeneration. Oncotarget. 2017 Jul 4;8(27):43721-43732. doi: 10.18632/oncotarget.17341.

6. Ohm, T., Scharnagl, H., März, W. et al. Apolipoprotein E isoforms and the development of low and high Braak stages of Alzheimer's disease-related lesions. Acta Neuropathol 98, 273–280 (1999). https://doi.org/10.1007/s004010051080.

7. Yamazaki, Y., Zhao, N., Caulfield, T.R. et al. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: pathobiology and targeting strategies. Nat Rev Neurol 15, 501–518 (2019). https://doi.org/10.1038/s41582-019-0228-7.

8. Mayeux R, Saunders AM, Shea S, Mirra S, Evans D, Roses AD, et al. Utility of the apolipoprotein E genotype in the diagnosis of Alzheimer's disease. Alzheimer's disease centers consortium on Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. N Engl J Med. 1998;338(8):506–11.

9. Corder EH, Saunders AM, Strittmatter WJ, Schmechel DE, Gaskell PC, Small GW, Roses AD, Haines JL, Pericak-Vance MA. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. Science. 1993 Aug 13;261(5123):921-3. doi: 10.1126/science.8346443. PMID: 8346443.

10. Schmechel DE, Saunders AM, Strittmatter WJ, Crain BJ, Hulette CM, Joo SH, Pericak-Vance MA, Goldgaber D, Roses AD. Increased amyloid beta-peptide deposition in cerebral cortex as a consequence of apolipoprotein E genotype in late-onset Alzheimer disease. Proc Natl Acad Sci U S A. 1993 Oct 15;90(20):9649-53. doi: 10.1073/pnas.90.20.9649.

11. Strittmatter, W. J., Saunders, A. M., Schmechel, D., Pericak-Vance, M., Enghild, J., Salvesen, G. S., et al. (1993). Apolipoprotein E: high-avidity binding to beta-amyloid and increased frequency of type 4 allele in late-onset familial Alzheimer disease. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 90, 1977–1981. doi: 10.1073/pnas.90.5.1977

12. Farrer LA, Cupples LA, Haines JL, et al. Effects of Age, Sex, and Ethnicity on the Association Between Apolipoprotein E Genotype and Alzheimer Disease: A Meta-analysis. JAMA. 1997;278(16):1349–1356. doi:10.1001/jama.1997.03550160069041.

13. Bu G. Apolipoprotein E and its receptors in Alzheimer's disease: pathways, pathogenesis and therapy. Nat Rev Neurosci. 2009 May;10(5):333-44. doi: 10.1038/nrn2620.

Légende des symboles utilisée dans les instructions d'utilisation et sur les étiquettes du kit

IVD	Dispositif de diagnostic *in vitro*	NON STERILE	Dispositif médical non stérile
REF	Référence		Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
LOT	Code du lot	CE 2797	Conformité européenne évaluée par BSI
	Limites de température		Avertissement
	Date limite d'utilisation	Σ	Contenu suffisant pour < n > tests
	Date de fabrication		Toxique ou très toxique
	Fabricant		Consulter le mode d'emploi
	Risque biologique		Ne pas réutiliser

Représentants autorisés

- **United Kingdom Responsible Person (UKRP)**

Nom : Pathaway Services Ltd

Adresse : Headlands House, 1, Kings Court, Kettering Parkway, Kettering, NN15 6WJ, United Kingdom

Téléphone : +44 (0) 1536 647 537

- **Swiss Authorized Representative (CH-REP)**

Nom : MedEnvoy Switzerland

Adresse : Gotthardstrasse 28, 6302 Zug, Switzerland

Téléphone : +41 41 562 01 42

FIRALIS

Nous vous remercions d'avoir choisi Firalis

Si vous souhaitez obtenir d'autres informations, en savoir plus sur la FDS ou

pour toute demande concernant les instructions dans d'autres langues, veuillez nous écrire :

contact@firalis.com