



ELITechGroup S.p.A.  
C.so Svizzera, 185  
10149 Torino ITALIA

Uffici: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11  
E-mail: [emd.support@elitechgroup.com](mailto:emd.support@elitechgroup.com)  
Sito internet: [www.elitechgroup.com](http://www.elitechgroup.com)

## NOTICE of CHANGE dated 16/09/2021

### IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

# «MDR/MTB ELITe MGB Kit» Ref. RTS120ING

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

- *Correction of Tm value of katG probe for INH negative resistance.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

### PLEASE NOTE



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS



**MDR/MTB ELITe MGB® Kit**  
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

**REF RTS120ING**

## PRINCIPES DU TEST

Le test consiste en une réaction d'amplification en temps réel multiplexe réalisée par le système **ELITe InGenius**, un système intégré et automatisé d'extraction, d'amplification, de détection et d'interprétation des résultats.

Dans le seul objectif de détecter la tuberculose et d'identifier une résistance génotypique du complexe MTB à partir d'ADN extrait de chaque échantillon analysé, deux réactions d'amplification sont réalisées au cours de la même session analytique en utilisant les mélanges TB1 PCR Mix et TB2 PCR Mix dans deux cassettes de PCR.

Le tube à essai **TB1 PCR Mix** amplifie les cibles suivantes :

- une région de la séquence répétée IS6110, détectée par une sonde spécifique (Canal MTB), pour identifier le complexe MTB,
- la région de point chaud de 81 pb du gène rpoB, détectée par trois sondes spécifiques (Canaux rpoB2, rpoB3, rpoB4), pour identifier la résistance génotypique à la rifampicine.

Le tube à essai **TB2 PCR Mix** amplifie les cibles suivantes :

- la région de point chaud de 81 pb du gène rpoB, détectée par une sonde spécifique (Canal rpoB1), pour identifier la résistance génotypique à la rifampicine,
- la région du codon 315 du gène katG, détectée par une sonde spécifique (Canal katG), pour identifier la résistance génotypique à l'isoniazide,
- la région -15/-8 du promoteur du gène inhA, détectée par une sonde spécifique (Canal inhA), pour identifier la résistance génotypique à l'isoniazide.

Le contrôle interne exogène est également amplifié dans les mélanges TB1 PCR Mix et TB2 PCR Mix. Le contrôle interne, qui est basé sur une séquence artificielle (IC2), est détecté par une sonde spécifique (Canal IC).

Les sondes dotées de la technologie ELITe MGB® sont activées lorsqu'elles s'hybrident au produit spécifique de la réaction d'amplification. L'émission de la fluorescence est mesurée et enregistrée par l'instrument.

À la fin du cycle d'amplification, l'instrument ELITe InGenius analyse automatiquement :

- les courbes de fluorescence afin de calculer les « cycles seuils » (Ct) pour détecter le complexe MTB,
- les courbes de dissociation afin de calculer les températures de fusion (Tm) qui permettent d'identifier la présence des gènes cibles normaux et/ou mutés (rpoB, katG et inhA).

Le test a été validé avec le système **ELITe InGenius** à partir d'échantillons d'expectorations, de lavages bronchoalvéolaires (LBA), d'aspirats bronchiques (AB), d'urine, de liquides cavitaires, de biopsies et d'aspirats gastriques préalablement liquéfiés, décontaminés et inactivés.

## DESCRIPTION DU PRODUIT

Le produit «**MDR/MTB ELITe MGB® Kit**» fournit deux mélanges complets pour l'amplification en temps réel, le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix, **prêts à l'emploi et aliquotés dans quatre tubes à essai**. Chaque tube contient **280 µl** de solution, qui permet d'effectuer **12 tests** dans des conditions optimales de consommation de réactif (au moins 2 échantillons par session) en association avec l'instrument **ELITe InGenius**.

Le mélange **TB1 PCR Mix** contient les amorces et les sondes spécifiques pour :

- la séquence répétée **IS6110 du complexe MTB**. La sonde (MTB) est marquée par le fluorophore FAM, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent,
- la région de point chaud de 81 pb du gène **rpoB**. Les sondes (rpoB2, rpoB3 et rpoB4) sont marquées par les fluorophores AP639, AP525 et AP593, respectivement, stabilisées par le groupe MGB® et désactivées par un fragment non fluorescent,
- la séquence artificielle **IC2** du contrôle interne. La sonde (IC) est marquée par le fluorophore AP680, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent.

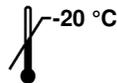
Le **TB2 PCR Mix** contient les amorces et la sonde spécifiques pour :

- la région de point chaud de 81 pb du gène **rpoB**. La sonde (rpoB1) est marquée par le fluorophore AP639, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent,
- la région du codon 315 du gène **katG**. La sonde (katG) est marquée par le fluorophore FAM, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent,

## MDR/MTB ELITe MGB® Kit

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

**REF RTS120ING**



## 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
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	page 5
PROCÉDURE	page 7
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	page 15
BIBLIOGRAPHIE	page 28
LIMITES DE LA PROCÉDURE	page 29
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	page 30
LÉGENDE DES SYMBOLES	page 31
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	page 32

## APPLICATION

Le produit «**MDR/MTB ELITe MGB® Kit**» fait partie d'un test qualitatif d'amplification des acides nucléiques pour la détection de l'ADN du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*) et pour l'identification des principales mutations associées à la résistance à la rifampicine et/ou l'isoniazide.

Le test doit être effectué avec le système **ELITe InGenius®** à partir d'échantillons d'expectorations, d'aspirats bronchiques (AB), de lavages bronchoalvéolaires (LBA), d'urine, de liquides cavitaires, de biopsies et d'aspirats gastriques préalablement liquéfiés, décontaminés et inactivés.

Le produit peut être utilisé pour deux objectifs différents :

- en tant qu'aide au diagnostic de la tuberculose à partir du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, en association avec les données cliniques du patient et d'autres résultats d'analyse de laboratoire, en particulier les méthodes de culture de mycobactéries,
- en tant qu'aide au diagnostic de la tuberculose et de la résistance génotypique du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, en association avec les données cliniques du patient et d'autres résultats d'analyse de laboratoire, en particulier les tests phénotypiques de sensibilité antimicrobienne.

**MDR/MTB ELITE MGB® Kit**  
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

**REF** RTS120ING

- la région -15/-8 du promoteur du gène **inhA**. La sonde (**inhA**) est marquée par le fluorophore AP593, stabilisée par le groupe **MGB®** et désactivée par un fragment non fluorescent,
- la séquence artificielle **IC2** du contrôle interne. La sonde (**IC**) est marquée par le fluorophore AP680, stabilisée par le groupe **MGB®** et désactivée par un fragment non fluorescent.

Les mélanges TB1 PCR Mix et TB2 PCR Mix contiennent un tampon, du chlorure de magnésium, des nucléotides triphosphates, des stabilisateurs et l'enzyme ADN polymérase avec activation thermique (Hot start).

Le produit permet d'effectuer **48 tests en association avec le système ELITE InGenius**, en incluant les contrôles.

**MATÉRIEL FOURNI**

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
<b>TB1 PCR Mix</b>	Mélange réactionnel complet Bouchon ROUGE	4 x 280 µl	-
<b>TB2 PCR Mix</b>	Mélange réactionnel complet Bouchon BLANC	4 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 à déplacement positif (2-20 µl, 5-50 µl, 50-200 µl, 200-1 000 µl).
- Eau de qualité biologie moléculaire.

**AUTRES PRODUITS REQUIS**

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

Pour l'extraction automatique de l'ADN, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats des échantillons, l'instrument «**ELITE InGenius**» (ELITechGroup S.p.A., réf. INT030) et les protocoles de test spécifiques suivants sont requis :

- paramètres pour le contrôle positif d'amplification «**MDR-MTB ELITE\_PC**»,
- paramètres pour le contrôle négatif d'amplification «**MDR-MTB ELITE\_NC**»,
- paramètres pour les échantillons à analyser «**MDR-MTB ELITE\_SP\_200\_100**», «**MDR-MTB ELITE\_BAL\_200\_100**», «**MDR-MTB ELITE\_U\_200\_100**», «**MDR-MTB ELITE\_CL\_200\_100**», «**MDR-MTB ELITE\_B\_200\_100**», «**MDR-MTB ELITE\_GA\_200\_100**».

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

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

**MDR/MTB ELITE MGB® Kit**  
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

**REF** RTS120ING

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

À titre de matrice de contrôle positif d'amplification, le produit spécifique «**MDR/MTB - ELITE Positive Control**» (ELITechGroup S.p.A., réf. CTR120ING) est requis, qui est une solution stabilisée d'ADN plasmidiques.

**AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS**

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

**Avertissements et précautions d'ordre général**

Les échantillons cliniques d'un patient présentant une suspicion de tuberculose doivent être manipulés conformément aux réglementations nationales ou locales en vigueur en matière de sécurité (environnement de travail et formation du personnel).

Les échantillons cliniques d'un patient présentant une suspicion de tuberculose doivent être inactivés avant d'être utilisés en association avec le système ELITE InGenius.

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 en autoclave pendant une heure à 121 °C avant d'être mis au rebut.

Manipuler et mettre au rebut tous les réactifs et l'ensemble du matériel qui ont été utilisés pour réaliser le test comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Éviter tout contact direct avec les réactifs. Éviter de provoquer des éclaboussures ou des pulvérisations. Les déchets doivent être manipulés et éliminés dans le respect des normes de sécurité adéquates. Le matériel combustible jetable doit être incinéré. Les déchets liquides contenant des acides ou des bases doivent être neutralisés avant d'être éliminés.

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

Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.

Ne pas manger, ni boire, ni fumer, ni appliquer de produits cosmétiques dans les zones de travail.

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

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

Lire attentivement toutes les instructions fournies avec le produit avant d'exécuter le test.

Lors de l'exécution du test, suivre les instructions fournies avec le produit.

Ne pas utiliser le produit au-delà de la date de péremption indiquée.

Utiliser uniquement les réactifs fournis avec le produit et ceux recommandés par le fabricant.

Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.

Ne pas utiliser de réactifs commercialisés par d'autres fabricants.

**Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire**

Les procédures de biologie moléculaire exigent du personnel qualifié et dûment formé pour éviter tout risque de résultats erronés, en particulier ceux dus à la dégradation des acides nucléiques contenus dans les échantillons ou à la contamination des échantillons par les produits d'amplification.

Il est nécessaire d'utiliser des blouses de laboratoire, des gants et des instruments dédiés à la session de travail.

Les échantillons doivent être adaptés et, si possible, dédiés à ce type d'analyse. Les échantillons inactivés doivent être manipulés sous une hotte à flux laminaire. Les pipettes utilisées pour manipuler les échantillons doivent être exclusivement utilisées à cette fin spécifique. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou doivent être utilisées avec des cônes dotés d'un filtre pour les aérosols. Les cônes utilisés doivent être stériles, exempts de DNases et de RNases, et exempts d'ADN et d'ARN.

Les 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.

#### Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Les mélanges **TB1 PCR Mix** et **TB2 PCR Mix** doivent être conservés à -20 °C dans l'obscurité.  
Les mélanges **TB1 PCR Mix** et **TB2 PCR Mix** peuvent être congelés et décongelés **sept fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risquent d'entraîner une réduction des performances du produit.

### ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

#### Échantillons

Ce produit doit être utilisé avec les échantillons cliniques suivants :

#### Échantillons d'expectorations

Les échantillons d'expectorations pour l'extraction de l'ADN doivent être prélevés et identifiés conformément aux directives des laboratoires de mycobactériologie, et doivent être transportés et conservés à +2/+8 °C pendant deux jours au maximum. Les échantillons doivent être liquéfiés avec une solution de N-acétyl-L-cystéine et décontaminés avec une solution d'hydroxyde de sodium (Manuel de laboratoire de mycobactériologie, Global Laboratory Initiative). L'échantillon liquéfié et décontaminé doit ensuite être inactivé à 95 °C pendant 30 minutes. Pour effectuer l'analyse avec ce produit, 0,2 ml d'échantillon inactivé doit être transféré dans le «**tube de sonication**» inclus dans le «**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**».

Les échantillons d'expectorations liquéfiés et décontaminés peuvent être congelés et conservés à -20 °C pendant un mois au maximum ou à -70 °C pour des périodes plus longues. Éviter les cycles de congélation/décongélation.

**Remarque** : pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons d'expectorations à l'aide de l'instrument **ELITE InGenius** et du **logiciel ELITE InGenius** version **1.3** (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **MDR-MTB ELITE\_SP\_200\_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µl d'échantillon, l'ajout du **CPE - Internal Control** à 10 µl/extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 100 µl.

#### Lavage bronchoalvéolaire (LBA), aspirats bronchiques (AB)

Les échantillons de LBA/AB pour l'extraction de l'ADN doivent être prélevés et identifiés conformément aux directives des laboratoires de mycobactériologie, et doivent être transportés et conservés à +2/+8 °C pendant deux jours au maximum. Les échantillons doivent être liquéfiés avec une solution de N-acétyl-L-cystéine et décontaminés avec une solution d'hydroxyde de sodium (Manuel de laboratoire de mycobactériologie, Global Laboratory Initiative). L'échantillon liquéfié et décontaminé doit ensuite être inactivé à 95 °C pendant 30 minutes. Pour effectuer l'analyse avec ce produit, 0,2 ml d'échantillon inactivé doit être transféré dans le «**tube de sonication**» inclus dans le «**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**».

Les échantillons de LBA/AB liquéfiés et décontaminés peuvent être congelés et conservés à -20 °C pendant un mois au maximum ou à -70 °C pour des périodes plus longues. Éviter les cycles de congélation/décongélation.

**Remarque** : pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons de LBA/AB à l'aide de l'instrument **ELITE InGenius** et du **logiciel ELITE InGenius** version **1.3** (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **MDR-MTB ELITE\_BAL\_200\_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µl d'échantillon, l'ajout du **CPE - Internal Control** à 10 µl/extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 100 µl.

#### Urine

Les échantillons d'urine pour l'extraction de l'ADN doivent être prélevés et identifiés conformément aux directives des laboratoires de mycobactériologie, et doivent être transportés et conservés à +2/+8 °C pendant deux jours au maximum. Les échantillons doivent être concentrés et décontaminés avec une solution d'hydroxyde de sodium (Manuel de laboratoire de mycobactériologie, Global Laboratory Initiative). L'échantillon concentré et décontaminé doit ensuite être inactivé à 95 °C pendant 30 minutes. Pour effectuer l'analyse avec ce produit, 0,2 ml d'échantillon inactivé doit être transféré dans le «**tube de sonication**» inclus dans le «**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**».

Les échantillons d'urine concentrés et décontaminés peuvent être congelés et conservés à -20 °C pendant un mois au maximum ou à -70 °C pour des périodes plus longues. Éviter les cycles de congélation/décongélation.

**Remarque** : pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons d'urine à l'aide de l'instrument **ELITE InGenius** et du **logiciel ELITE InGenius** version **1.3** (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **MDR-MTB ELITE\_U\_200\_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µl d'échantillon, l'ajout du **CPE - Internal Control** à 10 µl/extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 100 µl.

#### Liquides cavitaires

Les échantillons de liquides cavitaires pour l'extraction de l'ADN doivent être prélevés et identifiés conformément aux directives des laboratoires de mycobactériologie, et doivent être transportés et conservés à +2/+8 °C pendant deux jours au maximum. Les échantillons doivent être concentrés et décontaminés avec une solution d'hydroxyde de sodium (Manuel de laboratoire de mycobactériologie, Global Laboratory Initiative). L'échantillon concentré et décontaminé doit ensuite être inactivé à 95 °C pendant 30 minutes. Pour effectuer l'analyse avec ce produit, 0,2 ml d'échantillon inactivé doit être transféré dans le «**tube de sonication**» inclus dans le «**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**».

Les échantillons de liquides cavitaires concentrés et décontaminés peuvent être congelés et conservés à -20 °C pendant un mois au maximum ou à -70 °C pour des périodes plus longues. Éviter les cycles de congélation/décongélation.

**Remarque** : pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons de liquides cavitaires à l'aide de l'instrument **ELITE InGenius** et du **logiciel ELITE InGenius** version **1.3** (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **MDR-MTB ELITE\_CL\_200\_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µl d'échantillon, l'ajout du **CPE - Internal Control** à 10 µl/extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 100 µl.

#### Biopsies

Les échantillons de biopsies pour l'extraction de l'ADN doivent être prélevés et identifiés conformément aux directives des laboratoires de mycobactériologie, et doivent être transportés et conservés à +2/+8 °C pendant deux jours au maximum. Les échantillons doivent être lysés conformément aux procédures du laboratoire et décontaminés avec une solution d'hydroxyde de sodium (Manuel de laboratoire de mycobactériologie, Global Laboratory Initiative). L'échantillon décontaminé doit ensuite être inactivé à 95 °C pendant 30 minutes. Pour effectuer l'analyse avec ce produit, 0,2 ml d'échantillon inactivé doit être transféré dans le «**tube de sonication**» inclus dans le «**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**».

Les échantillons de biopsies décontaminés peuvent être congelés et conservés à -20 °C pendant un mois au maximum ou à -70 °C pour des périodes plus longues. Éviter les cycles de congélation/décongélation.

**Remarque** : pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons de biopsies à l'aide de l'instrument **ELITE InGenius** et du **logiciel ELITE InGenius** version **1.3** (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **MDR-MTB ELITE\_B\_200\_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µl d'échantillon, l'ajout du **CPE - Internal Control** à 10 µl/extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 100 µl.

#### Aspirats gastriques

Les échantillons d'aspirats gastriques pour l'extraction de l'ADN doivent être prélevés et identifiés conformément aux directives des laboratoires de mycobactériologie, et doivent être transportés et conservés à +2/+8 °C pendant deux jours au maximum. Les échantillons doivent être liquéfiés avec une solution de N-acétyl-L-cystéine et décontaminés avec une solution d'hydroxyde de sodium (Manuel de laboratoire de mycobactériologie, Global Laboratory Initiative). L'échantillon liquéfié et décontaminé doit ensuite être inactivé à 95 °C pendant 30 minutes. Pour effectuer l'analyse avec ce produit, 0,2 ml d'échantillon inactivé doit être transféré dans le «**tube de sonication**» inclus dans le «**ELITE InGenius SP 200 Consumable Set**».

Les échantillons d'aspirats gastriques liquéfiés et décontaminés peuvent être congelés et conservés à -20 °C pendant un mois au maximum ou à -70 °C pour des périodes plus longues. Éviter les cycles de congélation/décongélation.

**Remarque** : pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons d'aspirats gastriques à l'aide de l'instrument **ELITE InGenius** et du **logiciel ELITE InGenius** version **1.3** (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **MDR-MTB ELITE\_GA\_200\_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µl d'échantillon, l'ajout du **CPE - Internal Control** à 10 µl/extraction et l'éluion des acides nucléiques dans 100 µl.

#### Substances interférentes

Les données disponibles relatives à l'inhibition provoquée par les médicaments et d'autres substances sont indiquées 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 réactif d'amplification qui sera utilisé pendant le test :

- à titre de contrôle positif d'amplification, utiliser le réactif **TB Positive Control** (non inclus dans ce kit) en association avec le protocole **MDR-MTB ELITE\_PC**,
- à titre de contrôle négatif d'amplification (**TB Negative Control**), utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) en association avec le protocole **MDR-MTB ELITE\_NC**.

**Remarque :** le système **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 positifs et les contrôles négatifs 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 des contrôles de qualité (voir le paragraphe suivant) sont en dehors des spécifications,
- l'instrument **ELITE InGenius** subit une procédure de maintenance majeure.

**Contrôles de qualité**

Il est recommandé de planifier la validation de la procédure d'extraction et d'amplification. À cette fin, il est possible d'utiliser les échantillons testés ou du matériel de référence certifié.

**PROCÉDURE**

La procédure d'utilisation du **MDR/MTB ELITE MGB® Kit** avec le système **ELITE InGenius** se compose de trois étapes :

- vérification de la préparation du système,
- paramétrage de la session,
- examen et approbation des résultats.

**Vérification de la préparation du système**

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

- mettre l'instrument **ELITE InGenius** sous tension et de sélectionner le mode de connexion «**FERMÉ**» (CLOSED),
- vérifier que les contrôles d'amplification (Controls, TB Positive Control, TB Negative Control) ont été analysés en association avec le lot du réactif d'amplification à utiliser, et que les résultats sont approuvés et valides (Statut [Status]). En l'absence de résultats des contrôles d'amplification approuvés ou valides, il est nécessaire de les générer tel que décrit aux paragraphes suivants.
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session et l'utilisation des protocoles de test fournis par ELITechGroup S.p.A. Ces protocoles de IVD ont été spécifiquement validés avec les kits **ELITE MGB®**, l'instrument **ELITE InGenius** et la matrice indiquée.

Les protocoles de test disponibles avec le produit **MDR/MTB ELITE MGB® Kit** sont décrits dans le tableau ci-dessous :

Protocole de test pour le produit <b>MDR/MTB ELITE MGB® Kit</b> pour la détection de la tuberculose et l'identification de la résistance génotypique du complexe MTB			
Nom	Matrice	Rapport d'unité	Caractéristiques
<b>MDR-MTB ELITE_SP_200_100</b>	Expectorations	Positif/négatif/résistance positive/résistance négative	Volume d'extraction initial : 200 µl Volume d'éluion extrait : 100 µl Contrôle interne : 10 µl Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µl Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µl
<b>MDR-MTB ELITE_BAL_200_100</b>	LBA/AB	Positif/négatif/résistance positive/résistance négative	Volume d'extraction initial : 200 µl Volume d'éluion extrait : 100 µl Contrôle interne : 10 µl Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µl Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µl

<b>MDR-MTB ELITE_U_200_100</b>	Urine	Positif/négatif/résistance positive/résistance négative	Volume d'extraction initial : 200 µl Volume d'éluion extrait : 100 µl Contrôle interne : 10 µl Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µl Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µl
<b>MDR-MTB ELITE_CL_200_100</b>	Liquides cavitaires	Positif/négatif/résistance positive/résistance négative	Volume d'extraction initial : 200 µl Volume d'éluion extrait : 100 µl Contrôle interne : 10 µl Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µl Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µl
<b>MDR-MTB ELITE_B_200_100</b>	Biopsies	Positif/négatif/résistance positive/résistance négative	Volume d'extraction initial : 200 µl Volume d'éluion extrait : 100 µl Contrôle interne : 10 µl Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µl Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µl
<b>MDR-MTB ELITE_GA_200_100</b>	Aspirats gastriques	Positif/négatif/résistance positive/résistance négative	Volume d'extraction initial : 200 µl Volume d'éluion extrait : 100 µl Contrôle interne : 10 µl Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µl Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µl

**Remarque :** dans les tests pour la détection de la tuberculose et l'identification de la résistance génotypique du complexe MTB, le **TB1 PCR Mix** et le **TB2 PCR Mix** sont requis.

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

**Paramétrage de la session**

Le produit **MDR/MTB ELITE MGB® Kit** peut être utilisé avec le système **ELITE InGenius** pour les opérations suivantes :

- Analyse intégrée (Extraction + PCR),
- Analyse d'amplification (PCR uniquement),
- Analyse d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif (PCR uniquement),

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

**Remarque :** le système **ELITE InGenius** peut être connecté au « Serveur de gestion des informations de laboratoire (LIS) qui permet de charger les informations relatives à la session de travail. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument 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, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler les tubes à essai contenant le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix. Chaque tube à essai permet d'effectuer 12 réactions dans des conditions optimales de consommation de réactif (au moins 2 échantillons par session). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.

**Remarque** : décongeler les tubes à essai contenant le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix dans l'obscurité car ces réactifs sont sensibles à la lumière.

2. Décongeler les tubes à essai de CPE pour la session. Chaque tube à essai permet d'effectuer 12 extractions. Mélanger délicatement puis centrifuger les tubes à essai pendant 5 secondes.
3. Sélectionner « Exécuter l'analyse » (Perform Run) dans l'écran « Accueil » (Home).
4. Vérifier que le « Volume d'extraction initial » (Extraction Input Volume) est défini à 200 µl et que le « Volume d'élué extrait » (Extracted Elute Volume) est de 100 µl.
5. Pour chaque « Position » (Track) d'intérêt, renseigner l'« ID échantillon » (SampleID - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
6. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Test » (Assay) (par ex. MDR-MTB ELITE\_SP\_200\_100).
7. Vérifier que le « Protocole » (Protocol) affiché est : « Extraction + PCR » (Extract + PCR).
8. Sélectionner la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Position de l'échantillon » (Sample Position) et sélectionner « Tube d' extraction » (Extraction Tube). Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger le CPE et le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix sur le « Bloc inventaire » (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Zone inventaire » (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
11. Charger les « Cassettes de PCR » (PCR Cassettes), 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 « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
12. Fermer le tiroir de l'instrument.
13. Appuyer sur « Démarrer » (Start) pour lancer l'analyse.

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

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

**Remarque** : au terme de l'analyse, les cassettes de PCR contenant les produits de réaction et les consommables doivent être retirées de l'instrument et mises au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

**Remarque** : les PCR Mix peuvent être conservés dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 7 sessions de travail de 3 heures chacune.

#### B. Analyse d'amplification

Pour paramétrer une analyse d'amplification à partir d'acides nucléiques extraits, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

1. Décongeler les tubes à essai contenant le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix. Chaque tube à essai permet d'effectuer 12 réactions dans des conditions optimales de consommation de réactif (au moins 2 échantillons par session). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.

**Remarque** : décongeler les tubes à essai contenant le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix dans l'obscurité car ces réactifs sont sensibles à la lumière.

2. Sélectionner « Exécuter l'analyse » (Perform Run) dans l'écran « Accueil » (Home).
3. Même si aucune extraction ne sera réalisée, vérifier que le « Volume d'extraction initial » (Extraction Input Volume) est de 200 µl et que le « Volume d'élué extrait » (Extracted Elute Volume) est de 100 µl.
4. Pour chaque « Position » (Track) d'intérêt, renseigner le SID en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
5. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Test » (Assay) (par ex. MDR-MTB ELITE\_SP\_200\_100).
6. Sélectionner « PCR uniquement » (PCR Only) dans la colonne « Protocole » (Protocol).
7. Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Position de l'échantillon » (Sample Position) est « Tube d'élué (ligne inférieure) » [Elution Tube (bottom row)]. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
8. Charger le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix sur le « Bloc inventaire » (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la « Zone inventaire » (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger les « Cassettes de PCR » (PCR Cassettes) et les échantillons d'acide nucléique extraits en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Suivant » (Next) pour poursuivre le paramétrage.
11. Fermer le tiroir de l'instrument.
12. Appuyer sur « Démarrer » (Start) pour lancer l'analyse.

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

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

**Remarque** : au terme de l'analyse, les cassettes de PCR contenant les produits de réaction et les consommables doivent être retirées de l'instrument et mises au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter tout déversement des produits de la réaction.

**Remarque** : les PCR Mix peuvent être conservés dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 7 sessions de travail de 3 heures chacune.

### 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 à essai contenant le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix. Chaque tube à essai permet d'effectuer 12 réactions dans des conditions optimales de consommation de réactif (au moins 2 échantillons par session). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.

**Remarque** : décongeler les tubes à essai contenant le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix dans l'obscurité car ces réactifs sont sensibles à la lumière.

2. Décongeler le tube TB Positive Control pour la session. Chaque tube permet d'effectuer 2 sessions. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
3. Transférer au minimum 100 µl d'eau de qualité biologique moléculaire dans un «Tube d'éluion» (Elution tube) inclus dans le «ELITe InGenius SP 200 Consumable Set».
4. Sélectionner «Exécuter l'analyse» (Perform Run) dans l'écran «Accueil» (Home).
5. Même si aucune extraction ne sera réalisée, vérifier que le «Volume d'extraction initial» (Extraction Input Volume) est de 200 µl et que le «Volume d'éluion extrait» (Extracted Elute Volume) est de 100 µl.
6. Dans la «Position» (Track) d'intérêt, sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne «Test» (Assay).
7. Pour le contrôle positif, sélectionner MDR-MTB ELITe\_PC dans la colonne «Test» (Assay) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du TB Positive Control.
8. Pour le contrôle négatif, sélectionner MDR-MTB ELITe\_NC dans la colonne «Test» (Assay) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption de l'eau de qualité biologique moléculaire.
9. Cliquer sur «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix sur le «Bloc inventaire» (Inventory Block) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
11. Charger et vérifier les portoirs de cônes dans la «Zone inventaire» (Inventory Area) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
12. Charger les «Cassettes de PCR» (PCR Cassettes), le tube TB Positive Control et le tube de contrôle négatif en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur «Suivant» (Next) pour poursuivre le paramétrage.
13. Fermer le tiroir de l'instrument.
14. Appuyer sur «Démarrer» (Start) pour lancer l'analyse.

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

**Remarque** : au terme de l'analyse, le contrôle positif restant doit être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C. Éviter tout déversement du contrôle positif. Le contrôle négatif restant doit être mis au rebut.

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

**Remarque** : les PCR Mix peuvent être conservés dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 7 sessions de travail de 3 heures chacune.

### Examen et approbation des résultats

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

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

### Détection de la tuberculose et identification de la résistance génotypique du complexe MTB

Le système **ELITe InGenius** génère les résultats obtenus avec le produit **MDR/MTB ELITe MGB® Kit** par 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 cibles (MTB, rpoB1, rpoB2, rpoB3, rpoB4, katG et inhA) dans les réactions d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif sont analysés automatiquement et interprétés par l'instrument avec les paramètres inclus dans les protocoles de test «MDR-MTB ELITe\_PC» et «MDR-MTB ELITe\_NC».

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

**Remarque** : le contrôle positif et le contrôle négatif sont traités en association avec le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix, si bien que les résultats des contrôles doivent être approuvés pour les deux PCR Mix. Par défaut, la GUI affiche les résultats des contrôles pour le TB1 PCR Mix (Contrôles). En cliquant sur le champ du test, la fenêtre du test s'ouvre et le TB2 PCR Mix peut être sélectionné afin d'approuver les résultats des contrôles associés.

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

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

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

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

#### B. Validation des résultats des échantillons

Les signaux de fluorescence émis par les sondes cibles (MTB, rpoB1, rpoB2, rpoB3, rpoB4, katG, inhA) et par la sonde du contrôle interne (IC) dans les réactions d'amplification de l'échantillon sont analysés automatiquement et interprétés par l'instrument avec les paramètres inclus dans les protocoles de test MDR-MTB ELITe\_SP\_200\_100, MDR-MTB ELITe\_BAL\_200\_100, MDR-MTB ELITe\_U\_200\_100, MDR-MTB ELITe\_CL\_200\_100, MDR-MTB ELITe\_B\_200\_100, MDR-MTB ELITe\_GA\_200\_100.

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

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

1) Contrôle positif	Statut
TB Positive Control	APPROUVÉ
2) Contrôle négatif	Statut
TB Negative Control	APPROUVÉ

Pour chaque échantillon, le résultat du test est automatiquement interprété par le système à partir des valeurs Ct (pour le complexe MTB et l'IC) et des valeurs de Tm (pour le MTB et l'analyse de la résistance) selon l'algorithme du **logiciel ELITE InGenius** et les paramètres du protocole de test.

Les messages des résultats possibles pour la détection du complexe MTB sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Résultat d'une session sur l'échantillon	Interprétation
ADN du MTB détecté. Le typage est le suivant : (MTB DNA Detected. Typing as follow:)	L'ADN du complexe MTB a été détecté dans l'échantillon en une quantité suffisante pour exécuter l'analyse de la résistance aux antibiotiques (voir le tableau suivant).
ADN du MTB détecté. Typage impossible (MTB DNA Detected. Typing not feasible).	L'ADN du complexe MTB a été détecté dans l'échantillon mais en une quantité insuffisante pour exécuter l'analyse de la résistance aux antibiotiques.
ADN du MTB non détecté ou inférieur à la LoD (MTB DNA Not Detected or below LoD).	L'ADN du complexe MTB n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est <b>négatif et valide</b> ou la concentration cible est inférieure à la limite de détection (LoD) du test.
Non valide - Tester à nouveau l'échantillon (Invalid - Retest Sample).	<b>Résultat d'analyse non valide</b> en raison de problèmes relatifs au contrôle interne (extraction incorrecte ou contamination par des inhibiteurs). Le test doit être répété.
Non concluant - Tester à nouveau l'échantillon (Inconclusive – Retest Sample).	<b>Résultat d'analyse non déterminé</b> en raison de problèmes relatifs à la détection du complexe MTB. Le test doit être répété.

Les messages de résultat possibles relatifs à l'analyse de la résistance aux antibiotiques de l'échantillon sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Résultat d'une session sur l'échantillon	Interprétation
Résistance négative à la RIF (RIF Resistance Negative)	Aucune mutation dans la région du gène rpoB analysée. L'échantillon pourrait être <b>sensible à la rifampicine</b> .
Résistance positive à la RIF : Sonde/s (RIF Resistance Positive: Probe/s)	Mutation présente dans la région du gène rpoB analysée. L'échantillon pourrait être <b>résistant à la rifampicine</b> . Les sondes qui ont détecté les mutations sont indiquées dans les résultats.
Résistance négative à l'INH (INH Resistance Negative)	Aucune mutation dans les régions des gènes katG et inhA analysées. L'échantillon pourrait être <b>sensible à l'isoniazide</b> .
Résistance positive à l'INH : Sonde/s (INH Resistance Positive: Probe/s)	Mutations présentes dans les régions des gènes katG et inhA analysées. L'échantillon pourrait être <b>résistant à l'isoniazide</b> . Les sondes qui ont détecté les mutations sont indiquées dans les résultats.
Typage RIF non valide - Tester à nouveau l'échantillon (RIF Typing Invalid - Retest Sample).	<b>Résultat d'analyse non valide</b> en raison de problèmes relatifs à l'analyse de la résistance aux antibiotiques. Le test doit être répété.
Typage INH non valide - Tester à nouveau l'échantillon (INH Typing Invalid - Retest Sample).	

Lorsque l'ADN du complexe MTB est détecté dans l'échantillon et que l'analyse de la résistance aux antibiotiques est réalisée, les messages de résultat peuvent s'afficher dans différentes combinaisons (par ex., ADN du MTB détecté. Le typage est le suivant : Résistance négative à la RIF, Résistance positive à l'INH : katG, inhA (MTB DNA Detected. Typing as follow: RIF Resistance Negative, INH Resistance Positive: katG, inhA).

Les échantillons rapportés comme «ADN du MTB détecté. Typage impossible» (MTB DNA Detected. Typing not feasible) par le **logiciel ELITE InGenius** ne sont pas appropriés pour l'analyse de la résistance aux antibiotiques. Dans ce cas, l'ADN du MTB a été détecté mais l'ADN n'est pas suffisant (MTB Ct > 31) pour obtenir des résultats corrects de manière reproductible. Ceci est dû à une faible concentration du MTB dans l'échantillon ou à des problèmes lors de l'étape d'amplification ou d'extraction (dégradation d'ADN, perte d'ADN pendant l'extraction ou contamination par des inhibiteurs dans l'éluat).

**Remarque :** lorsqu'un échantillon est rapporté comme «ADN du MTB détecté. Typage impossible » (MTB DNA Detected. Typing not feasible), la Tm des sondes cibles (rpoB1, rpoB2, rpoB3, rpoB4, katG, inhA) peut être vérifiée par l'opérateur. Si toutes les valeurs de Tm sont comprises dans les limites indiquées dans le tableau ci-dessous pour les gènes de type sauvage, le résultat de l'échantillon est «Résistance négative à la RIF» (RIF Resistance Negative) et «Résistance négative à l'INH» (INH Resistance Negative).

Sonde	Limites de la Tm des gènes de type sauvage	Résultat
rpoB1	66,0 ≤ Tm ≤ 80,0	Résistance négative à la RIF (RIF Resistance Negative)
rpoB2	70,0 ≤ Tm ≤ 80,0	
rpoB3	68,0 ≤ Tm ≤ 80,0	
rpoB4	63,5 ≤ Tm ≤ 80,0	Résistance négative à l'INH (INH Resistance Negative)
katG	70,0 ≤ Tm ≤ 80,0	
inhA	66,0 ≤ Tm ≤ 80,0	

Les échantillons rapportés comme «Non valide - Tester à nouveau l'échantillon» (Invalid - Retest Sample) par le **logiciel ELITE InGenius** ne sont pas appropriés pour l'interprétation des résultats. Dans ce cas, l'ADN du contrôle interne 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 ou contamination par des inhibiteurs dans l'éluat), ce qui peut générer des résultats incorrects.

Les échantillons rapportés comme «Non concluant - Tester à nouveau l'échantillon» (Inconclusive – Retest Sample) par le **logiciel ELITE InGenius** ne sont pas appropriés pour l'interprétation des résultats. Dans ce cas, une erreur s'est produite lors de la détection de l'ADN du complexe MTB en raison de problèmes lors de l'étape d'extraction ou d'amplification (contamination par des inhibiteurs dans l'éluat, mélange des PCR Mix), ce qui peut générer des résultats incorrects.

Les échantillons rapportés comme «Typage RIF non valide - Tester à nouveau l'échantillon» (RIF Typing Invalid - Retest Sample) et «Typage INH non valide - Tester à nouveau l'échantillon» (INH Typing Invalid - Retest Sample) par le **logiciel ELITE InGenius** ne sont pas appropriés pour l'analyse de résistance aux antibiotiques. Dans ce cas, une erreur s'est produite lors de la détection de la résistance aux antibiotiques en raison de problèmes lors de l'étape d'extraction ou d'amplification (contamination par des inhibiteurs dans l'éluat, problème pendant le paramétrage de la PCR), ce qui peut générer des résultats incorrects. Toutefois, **les échantillons sont positifs pour l'ADN du complexe MTB**.

Lorsque le volume d'éluat est suffisant, l'échantillon extrait peut être à nouveau testé par une analyse d'amplification en mode «PCR uniquement» (PCR Only) « tel qu'il est » ou dilué 1:3 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire. Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'une nouvelle aliquote à l'aide du mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les échantillons rapportés comme «ADN du MTB détecté. Le typage est le suivant : Résistance positive à la RIF : rpoB2, rpoB3, rpoB4, rpoB1» ("MTB DNA detected Typing as follows: RIF Resistance Positive: rpoB2, rpoB3, rpoB4, rpoB1") par le **logiciel ELITE InGenius** ne sont pas appropriés pour l'analyse de résistance aux antibiotiques car il n'est pas correct de détecter les mutations pour toutes les sondes rpoB. Dans ce cas, l'ADN du MTB a été détecté mais l'amplification du gène rpoB a été inhibée, ce qui génère des résultats incorrects. Toutefois, **les échantillons sont positifs pour l'ADN du complexe MTB**.

Lorsque le volume d'éluat est suffisant, l'échantillon extrait peut être à nouveau testé par une analyse d'amplification en mode «PCR uniquement» (PCR Only) « tel qu'il est » ou dilué 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire. Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'une nouvelle aliquote à l'aide du mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

**Remarque :** lorsqu'un test est répété, il convient de tenir compte du fait que le test sera réalisé avec le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix et que, en conséquence, le volume d'éluat doit être suffisant pour deux réactions (au minimum 50 µl).

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

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

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

#### C. Rapport des résultats de l'échantillon

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

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

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

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

### CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

#### Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit a été déterminée en association avec des échantillons d'expectorations liquéfiés, décontaminés et inactivés, et à l'aide du système ELITE InGenius.

La LoD a été calculée en testant un panel d'échantillons d'expectorations certifiés négatifs pour le MTB, dopés avec un matériel de référence de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), souche H37Ra (ATCC), et quantifiés par une amplification en temps réel. Neuf niveaux de dilutions de MTB, de 320 CFU/ml à 1 CFU/ml, ont été préparés. Chaque niveau de dilution a été testé en 12 réplicats avec le système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

La LoD a été calculée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 % par une analyse de régression des probits des données. La LoD estimée a été vérifiée par une analyse de 20 réplicats d'échantillons d'expectorations qui ont été dopés avec un matériel de référence de MTB à la concentration revendiquée. En outre, la même LoD a également été vérifiée pour la matrice de LBA/AB par une analyse de 20 réplicats d'échantillons de LBA/AB dopés avec un matériel de référence de MTB à la concentration revendiquée. Les résultats obtenus étayent la LoD revendiquée.

En association avec les échantillons de liquide cavitaire, d'urine et de biopsie, la LoD a été vérifiée par une analyse de 20 réplicats de chaque matrice dopés avec un matériel de référence de MTB à une concentration de 20 CFU/ml. Les résultats obtenus étayent la LoD revendiquée.

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Limite de détection avec le système ELITE InGenius			
Matrice	LoD (CFU/ml)	Intervalle de confiance à 95 % (CFU/ml)	
		limite inférieure	limite supérieure
Expectorations	6	4	15
LBA/AB	6	-	-
Liquide cavitaire	20	-	-
Urine	20	-	-
Biopsie	20	-	-

#### Détection d'une résistance à la rifampicine et/ou l'isoniazide

La détection d'une résistance à la rifampicine et/ou l'isoniazide à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit utilisé en association avec le système ELITE InGenius a été évaluée en analysant quelques échantillons certifiés d'ADN génomique issus d'isolats du complexe MTB résistants aux antibiotiques (fournis par un laboratoire externe) et caractérisés par les mutations indiquées dans le tableau ci-dessous.

Mutations dans la région de point chaud de 81 pb du gène rpoB (numérotation des codons d' <i>E. coli</i> )
Q510L, L511P, L511R, Q513L, Q513P, M515I, D516V, D516Y, D516G, Q517P, S522L, S522P, H526L, H526Y, H526D, H526N, H526R, H526C, H526P, S531L, S531W, A532V, L533P
Mutations dans la région du codon 315 du gène katG
S315N, S315T
Mutations dans la région du promoteur du gène inhA
-15T, -8A, -8C, -7A

Les échantillons d'ADN extrait ont été dilués et analysés en association avec le système ELITE InGenius en mode «PCR uniquement» (PCR Only).

Tous les isolats testés se sont avérés être positifs pour le MTB et ont été correctement typés comme résistants à la rifampicine et/ou l'isoniazide par le produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit.

#### Efficacité de détection (inclusivité)

L'efficacité de détection des espèces de mycobactéries incluses dans le complexe *Mycobacterium tuberculosis* du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit a été évaluée par une analyse *in silico* des séquences disponibles dans la base de données EBI ENA.

Les régions sélectionnées pour l'hybridation des amorces et des sondes fluorescentes ont été vérifiées par rapport à l'alignement des séquences des cibles MTB (IS6110), rpoB, katG et inhA. Les régions d'hybridation ont mis en évidence une conservation de séquence et une absence de mutations significatives dans *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*.

L'efficacité de détection des espèces de mycobactéries incluses dans le complexe *Mycobacterium tuberculosis* a également été vérifiée par une analyse d'un panel d'ADN génomique certifié de *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*.

Les échantillons d'ADN extrait ont été dilués et analysés en association avec le système ELITE InGenius en mode «PCR uniquement» (PCR Only).

Tous les isolats testés ont été détectés comme positifs pour le MTB par le MDR/MTB ELITE MGB® Kit.

#### Marqueurs potentiellement interférents

La réactivité croisée potentielle avec d'autres cibles du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit a été évaluée par une analyse *in silico* des séquences disponibles dans la base de données EBI ENA.

Les régions sélectionnées pour l'hybridation des amorces et des sondes fluorescentes ont été vérifiées par rapport à l'alignement de séquences procaryotes, en incluant des mycobactéries non tuberculeuses (NTM) et d'autres organismes qui pourraient être présents dans des échantillons cliniques. Les régions d'hybridation ont mis en évidence une absence d'homologies significatives et n'ont indiqué aucune interférence potentielle.

L'absence de réactivité croisée avec des NTM a également été vérifiée par l'analyse d'un panel d'ADN génomique certifié de *M. avium*, *M. goodii*, *M. abscessus*, *M. intracellulare*, *M. fortuitum*, *M. kansasii*, *M. xenopi*, *M. chelonae*. En outre, un panel d'ADN génomique certifié d'autres organismes potentiellement présents dans des échantillons d'expectorations a été analysé : *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*.

Les échantillons d'ADN extrait ont été analysés en association avec le système ELITE InGenius en mode «PCR uniquement» (PCR Only).

Tous les isolats étaient négatifs pour le MTB lorsqu'ils étaient analysés à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit.

**Substances interférentes**

Un panel de substances potentiellement interférentes, à la concentration pertinente maximum, a été testé avec le produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Les substances testées étaient des antibiotiques (rifampicine et isoniazide) et des composants d'expectorations (mucine, sang total humain).

Les substances ont été individuellement ajoutées à des échantillons d'expectorations négatifs pour le MTB, dopés avec un matériel de référence de *Mycobacterium tuberculosis* à une concentration d'environ 2 500 CFU/ml.

Les échantillons ont été testés en 3 réplicats avec le système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Substance	Concentration	Résultats corrigés
Rifampicine	25 µg/ml	3/3
Isoniazide	50 µg/ml	3/3
Mucine porcine	2 % p/v (20 mg/ml)	3/3
Sang total sur EDTA	5 % v/v	3/3

Aucune des substances testées, à la concentration pertinente maximum, n'a montré d'interférences avec le produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit.

**Répétabilité**

La répétabilité des résultats obtenus à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit en association avec le système ELITE InGenius a été vérifiée par une analyse d'échantillons positifs pour le MTB et négatifs pour le MTB.

Un échantillon d'expectorations négatif pour le MTB dopé avec un matériel de référence de *Mycobacterium tuberculosis* à une concentration d'environ 2 500 CFU/ml et un échantillon d'expectorations négatif pour le MTB ont été analysés en trois réplicats, à raison de deux sessions d'analyse par jour, avec le même lot de produit (répétabilité intra-session). Trois lots de produit différents ont été analysés sur trois jours différents (répétabilité inter-lots), sur le même instrument et par le même opérateur.

Les échantillons ont été traités sur le système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les valeurs Ct de la cible du complexe MTB (IS6110) et de la cible du contrôle interne (IC2), ainsi que les valeurs de Tm de toutes les cibles pathogènes (IS6110, rpoB, katG et inhA), ont été utilisées afin de calculer le pourcentage de coefficient de variation (% CV) afin d'évaluer la reproductibilité, considérée comme imprécision.

Un résumé des résultats est présenté ci-dessous.

Cible	Répétabilité intra-session		Répétabilité inter-lots	
	Ct moyen	% CV Ct	Ct moyen	% CV Ct
MTB	30,29	0,92	30,43	1,09
CI	29,11	1,91	29,89	2,54
Cible	Tm moyenne	% CV Tm	Tm moyenne	% CV Tm
MTB	68,3	0,08	68,4	0,11
rpoB1	67,0	0,12	67,0	0,20
rpoB2	71,4	0,11	71,5	0,15
rpoB3	69,9	0,37	70,0	0,26
rpoB4	66,3	0,71	66,4	0,53
katG	70,8	0,08	70,8	0,13
inhA	67,7	0,24	67,0	0,20

La répétabilité du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit pour chaque cible a montré un % CV qui n'excédait pas 3 %.

**Reproductibilité**

La reproductibilité des résultats obtenus à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit en association avec le système ELITE InGenius a été vérifiée par une analyse d'échantillons positifs pour le MTB et négatifs pour le MTB.

Un échantillon d'expectorations négatif pour le MTB dopé avec un matériel de référence de *Mycobacterium tuberculosis* à une concentration d'environ 2 500 CFU/ml et un échantillon d'expectorations négatif pour le MTB ont été analysés en trois réplicats, à raison de deux sessions d'analyse par jour. Trois lots de produit différents ont été analysés sur trois jours différents, sur trois instruments différents et par trois opérateurs différents.

Les échantillons ont été traités sur le système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les valeurs Ct de la cible du MTB (IS6110) et de la cible du contrôle interne (IC2), ainsi que les valeurs de Tm de toutes les cibles pathogènes (IS6110, rpoB, katG et inhA), ont été utilisées afin de calculer le pourcentage de coefficient de variation (% CV) afin d'évaluer la reproductibilité en termes d'imprécision.

Un résumé des résultats est présenté ci-dessous.

Cible	Reproductibilité	
	Ct moyen	% CV Ct
MTB	30,71	1,04
CI	30,88	2,39
Cible	Tm moyenne	% CV Tm
MTB	68,4	0,23
rpoB1	66,9	0,19
rpoB2	71,5	0,21
rpoB3	70,0	0,30
rpoB4	66,4	0,51
katG	70,9	0,16
inhA	67,2	0,61

La reproductibilité du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit pour chaque cible a montré un % CV qui n'excédait pas 3 %.

**Expectorations : sensibilité et spécificité diagnostiques**

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en analysant 50 échantillons cliniques d'expectorations positifs pour le MTB testés en culture.

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en utilisant 50 échantillons cliniques d'expectorations négatifs pour le MTB testés en culture.

Les échantillons d'expectorations ont été prélevés, pré-traités (voir la section « Échantillons et contrôles »), mis en culture et certifiés comme positifs pour le MTB ou négatifs pour le MTB par un laboratoire externe. Les échantillons ont ensuite été inactivés et testés à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit et du système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

MDR/MTB ELITE MGB Kit	Culture		
	Pos.	Nég.	Total
Pos.	50	1	51
Nég.	0	47	47
Total	50	48	98

Tous les échantillons positifs pour le MTB se sont avérés être positifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Dans ce test, la sensibilité diagnostique de l'analyse est de 100 %.

Parmi les échantillons négatifs pour le MTB, deux échantillons se sont avérés être non valides et ont été exclus de l'analyse. Parmi les 48 échantillons valides, 47 échantillons se sont avérés être négatifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Il a été confirmé que le résultat positif discordant était positif après un deuxième test de l'échantillon d'expectorations. Dans ce test, la spécificité diagnostique de l'analyse est de 98 %.

En outre, les mêmes échantillons positifs pour le MTB et négatifs pour le MTB ont également été testés par un autre test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD et par une microscopie de frottis AFB.

Les échantillons cliniques analysés par un autre test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD ont révélé 50 échantillons positifs pour le MTB et 50 échantillons négatifs pour le MTB, de manière analogue au test en culture. Le tableau ci-dessous résume la comparaison des résultats avec le produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit.

MDR/MTB ELITE MGB Kit	Test MDx CE-IVD		
	Pos.	Nég.	Total
	Pos.	50	1
Nég.	0	47	47
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>48</b>	<b>98</b>

Tous les échantillons positifs pour le MTB se sont avérés être positifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Dans ce test, la sensibilité diagnostique de l'analyse est de 100 %.

Parmi les échantillons négatifs pour le MTB, deux échantillons se sont avérés être non valides et ont été exclus de l'analyse. Parmi les 48 échantillons valides, 47 échantillons se sont avérés être négatifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Il a été confirmé que le résultat positif discordant était positif après un deuxième test de l'échantillon d'expectorations. Dans ces tests, la spécificité diagnostique de l'analyse est de 98 %.

Les échantillons cliniques testés par microscopie de frottis AFB ont révélé 44 échantillons positifs pour le MTB et 56 échantillons négatifs pour le MTB. Le tableau ci-dessous résume la comparaison des résultats avec le produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit.

MDR/MTB ELITE MGB Kit	Microscopie de frottis AFB		
	Pos.	Nég.	Total
	Pos.	44	7
Nég.	0	47	47
<b>Total</b>	<b>44</b>	<b>54</b>	<b>98</b>

Tous les échantillons positifs pour le MTB se sont avérés être positifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit.

Parmi les échantillons négatifs pour le MTB, deux échantillons se sont avérés être non valides et ont été exclus de l'analyse. Parmi les 54 échantillons valides, 47 échantillons se sont avérés être négatifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Il a été confirmé que six échantillons discordants sur 7 étaient positifs par les deux autres méthodes de référence (culture et test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD). Il a été confirmé que le dernier résultat positif discordant était positif après un deuxième test de l'échantillon d'expectorations uniquement à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit.

#### Expectorations : confirmation des échantillons positifs pour le MTB résistants aux antibiotiques

La sensibilité diagnostique du test de résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour le MTB résistants aux antibiotiques, a été évaluée en analysant les échantillons suivants :

- 20 échantillons cliniques d'expectorations dopés avec un isolat de MTB résistant à la rifampicine (mutation dans le gène rpoB),
- 20 échantillons cliniques d'expectorations dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG),
- 20 échantillons cliniques d'expectorations dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA).

Des échantillons cliniques d'expectorations négatifs pour le MTB ont été dopés à la concentration finale d'environ 5 000 CFU/ml avec des isolats de MTB certifiés par un laboratoire externe pour la présence de mutations dans l'un des trois gènes cibles en utilisant un test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD. Les échantillons ont été testés à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit et du système ELITE InGenius en mode « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs pour le MTB	Rés. RIF (rpoB)	Rés. INH (katG)	Rés. INH (inhA)	Typage impossible
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à la rifampicine (mutation de rpoB)	20	20	0	0	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de katG)	20	0	17	0	3
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de inhA)	20	0	0	18	2

Tous les échantillons se sont avérés être positifs pour le MTB.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à la rifampicine (mutation dans le gène rpoB) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à la rifampicine.

Dix-sept échantillons sur 20 dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à l'isoniazide. Il a été impossible de typer 3 échantillons en raison d'un faible signal du MTB ; ils ont par conséquent été exclus de l'analyse.

Dix-huit échantillons sur 20 dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à l'isoniazide. Il a été impossible de typer 2 échantillons en raison d'un faible signal du MTB ; ils ont par conséquent été exclus de l'analyse.

Dans ces tests, la sensibilité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

#### Expectorations : confirmation des échantillons positifs pour le MTB sensibles aux antibiotiques

La spécificité diagnostique du test de résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour le MTB sensibles aux antibiotiques, a été évaluée en analysant 50 échantillons cliniques d'expectorations positifs pour le MTB sensible aux antibiotiques.

Les échantillons d'expectorations ont été prélevés, pré-traités (voir la section «Échantillons et contrôles»), mis en culture et certifiés comme positifs pour le MTB et sensibles à la rifampicine et à l'isoniazide par un laboratoire externe en utilisant un test de sensibilité antimicrobienne. Les échantillons ont ensuite été inactivés et testés à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit et du système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs pour le MTB	Résistance négative à la RIF+ Résistance négative à l'INH	Typage impossible
Échantillons positifs pour le MTB, sensibles aux antibiotiques	50	47	3

Tous les échantillons se sont avérés être positifs pour le MTB et 47 échantillons sur 50 ont été correctement typés comme éventuellement sensibles à la rifampicine et à l'isoniazide. Il a été impossible de typer 3 échantillons en raison d'un faible signal du MTB ; ils ont par conséquent été exclus de l'analyse.

Dans ces tests, la spécificité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

#### LBA/AB : sensibilité et spécificité diagnostiques

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en analysant 6 échantillons cliniques de LBA/AB positifs pour le MTB testés en culture et 40 échantillons cliniques de LBA/AB dopés.

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en utilisant 40 échantillons cliniques de LBA/AB négatifs pour le MTB testés en culture.

Les échantillons de LBA/AB ont été prélevés, pré-traités (voir la section «Échantillons et contrôles»), mis en culture et certifiés comme positifs pour le MTB ou négatifs pour le MTB par un laboratoire externe. Les échantillons dopés ont été ajoutés avec des isolats sensibles aux antibiotiques à la concentration finale d'environ 20 CFU/ml. Les échantillons ont ensuite été inactivés et testés à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit et du système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

MDR/MTB ELITe MGB Kit	Culture		
	Pos.	Nég.	Total
	Pos.	42	1
Nég.	4	39	43
Total	46	40	86

Parmi les échantillons positifs pour le MTB ou dopés, 42 échantillons sur 46 se sont avérés être positifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITe MGB® Kit. Dans ce test, la sensibilité diagnostique de l'analyse est de 91,3 %.

Parmi les échantillons négatifs pour le MTB, 39 échantillons sur 40 se sont avérés être négatifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITe MGB® Kit. Dans ce test, la spécificité diagnostique de l'analyse est de 97,5 %.

#### LBA/AB : confirmation des échantillons positifs pour le MTB résistants aux antibiotiques

La sensibilité diagnostique du test de résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour le MTB résistants aux antibiotiques, a été évaluée en analysant les échantillons suivants :

- 2 échantillons cliniques de LBA/AB positifs pour le MTB testés en culture et résistants à la rifampicine et à l'isoniazide,
- 40 échantillons cliniques de LBA/AB dopés avec un isolat de MTB résistant à la rifampicine (mutation dans le gène rpoB),
- 40 échantillons cliniques de LBA/AB dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG),
- 40 échantillons cliniques de LBA/AB dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA).

Des échantillons cliniques de LBA/BA négatifs pour le MTB ont été dopés à la concentration finale d'environ 5 000 CFU/ml avec des isolats de MTB certifiés par un laboratoire externe pour la présence de mutations dans l'un des trois gènes cibles en utilisant un test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD. Les échantillons ont été testés à l'aide du MDR/MTB ELITe MGB® Kit et du système ELITe InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs pour le MTB	Rés. RIF (rpoB)	Rés. INH (katG)	Rés. INH (inhA)	Typage impossible
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à la rifampicine et à l'isoniazide	2	0	0	0	2
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à la rifampicine (mutation de rpoB)	40	40	0	0	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de katG)	40	0	40	0	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de inhA)	40	0	0	39	1

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à la rifampicine (mutation dans le gène rpoB) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à la rifampicine.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à l'isoniazide.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à l'isoniazide. Il a été impossible de typer 1 échantillon en raison d'un faible signal du MTB ; il a par conséquent été exclu de l'analyse.

Dans ces tests, la sensibilité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

#### LBA/AB : confirmation de l'absence de mutation dans des échantillons positifs pour le MTB

La spécificité diagnostique du test de résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour le MTB sensibles aux antibiotiques, a été évaluée en analysant 80 échantillons cliniques de LBA/AB dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation mais négatif pour les deux autres.

Des échantillons cliniques de LBA/BA négatifs pour le MTB ont été dopés à la concentration finale d'environ 5 000 CFU/ml avec des isolats de MTB certifiés par un laboratoire externe pour la présence de mutations dans l'un des trois gènes cibles en utilisant un test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD. Les échantillons ont été testés à l'aide du MDR/MTB ELITe MGB® Kit et du système ELITe InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs pour le MTB	Sens. RIF (rpoB)	Sens. INH (katG)	Sens. INH (inhA)	Typage impossible
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à la rifampicine (mutation de rpoB)	40	0	40	40	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de katG)	40	40	0	40	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de inhA)	40	39	39	0	1

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène rpoB ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes katG et inhA.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène katG ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes rpoB et inhA.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène inhA ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes rpoB et katG. Il a été impossible de typer 1 échantillon en raison d'un faible signal du MTB ; il a par conséquent été exclu de l'analyse.

Dans ces tests, la spécificité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

#### Urine : sensibilité et spécificité diagnostiques

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en analysant 12 échantillons cliniques d'urine positifs pour le MTB testés en culture et 8 échantillons cliniques d'urine dopés.

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en utilisant 20 échantillons cliniques d'urine négatifs pour le MTB testés en culture.

Les échantillons d'urine ont été prélevés, pré-traités (voir la section « Échantillons et contrôles »), mis en culture et certifiés comme positifs pour le MTB ou négatifs pour le MTB par un laboratoire externe. Les échantillons dopés ont été ajoutés avec des isolats sensibles aux antibiotiques à la concentration finale d'environ 20 CFU/ml. Les échantillons ont ensuite été inactivés et testés à l'aide du produit MDR/MTB ELITe MGB® Kit et du système ELITe InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

MDR/MTB ELITe MGB Kit	Culture		
	Pos.	Nég.	Total
	Pos.	16	0
Nég.	4	20	24
Total	20	20	40

Parmi les échantillons positifs pour le MTB ou dopés, 16 échantillons sur 20 se sont avérés être positifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITe MGB® Kit. Dans ce test, la sensibilité diagnostique de l'analyse est de 80 %.

Parmi les échantillons négatifs pour le MTB, tous les échantillons se sont avérés être négatifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITe MGB® Kit. Dans ce test, la spécificité diagnostique de l'analyse est de 100 %.

#### Urine : confirmation des échantillons positifs pour le MTB résistants aux antibiotiques

La sensibilité diagnostique du test de résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour le MTB résistants aux antibiotiques, a été évaluée en analysant les échantillons suivants :

- 20 échantillons cliniques d'urine dopés avec un isolat de MTB résistant à la rifampicine (mutation dans le gène rpoB),
- 20 échantillons cliniques d'urine dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG),
- 20 échantillons cliniques d'urine dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA).

Des échantillons cliniques d'urine négatifs pour le MTB ont été dopés à la concentration finale d'environ 5 000 CFU/ml avec des isolats de MTB certifiés par un laboratoire externe pour la présence de mutations dans l'un des trois gènes cibles en utilisant un test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD. Les échantillons ont été testés à l'aide du MDR/MTB ELITe MGB® Kit et du système ELITe InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

**MDR/MTB ELITE MGB® Kit**  
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS120ING

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs pour le MTB	Rés. RIF (rpoB)	Rés. INH (katG)	Rés. INH (inhA)	Typage impossible
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à la rifampicine (mutation de rpoB)	20	20	0	0	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de katG)	20	0	20	0	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de inhA)	20	0	0	20	0

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à la rifampicine (mutation dans le gène rpoB) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à la rifampicine.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à l'isoniazide.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à l'isoniazide.

Dans ces tests, la sensibilité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

**Urine : confirmation de l'absence de mutation dans des échantillons positifs pour le MTB**

La spécificité diagnostique du test de résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour le MTB sensibles aux antibiotiques, a été évaluée en analysant 40 échantillons cliniques d'urine dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation mais négatif pour les deux autres.

Des échantillons cliniques d'urine négatifs pour le MTB ont été dopés à la concentration finale d'environ 5 000 CFU/ml avec des isolats de MTB certifiés par un laboratoire externe pour la présence de mutations dans l'un des trois gènes cibles en utilisant un test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD. Les échantillons ont été testés à l'aide du MDR/MTB ELITE MGB® Kit et du système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs pour le MTB	Sens. RIF (rpoB)	Sens. INH (katG)	Sens. INH (inhA)	Typage impossible
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à la rifampicine (mutation de rpoB)	20	0	20	20	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de katG)	20	20	0	20	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de inhA)	20	20	20	0	0

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène rpoB ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes katG et inhA.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène katG ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes rpoB et inhA.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène inhA ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes rpoB et katG.

Dans ces tests, la spécificité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

**Biopsie : sensibilité et spécificité diagnostiques**

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en analysant 22 échantillons cliniques de biopsie positifs pour le MTB testés en culture et 20 échantillons cliniques de biopsie dopés.

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en utilisant 40 échantillons cliniques de biopsie négatifs pour le MTB testés en culture.

Les échantillons de biopsie ont été prélevés, pré-traités (voir la section « Échantillons et contrôles »), mis en culture et certifiés comme positifs pour le MTB ou négatifs pour le MTB par un laboratoire externe. Les échantillons dopés ont été ajoutés avec des isolats sensibles aux antibiotiques à la concentration finale d'environ 20 CFU/ml. Les échantillons ont ensuite été inactivés et testés à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit et du système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

**MDR/MTB ELITE MGB® Kit**  
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS120ING

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

MDR/MTB ELITE MGB Kit	Culture		
	Pos.	Nég.	Total
	Pos.	38	0
Nég.	4	40	44
Total	42	40	82

Parmi les échantillons positifs pour le MTB ou dopés, 38 échantillons sur 42 se sont avérés être positifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Dans ce test, la sensibilité diagnostique de l'analyse est de 90,5 %.

Parmi les échantillons négatifs pour le MTB, tous les échantillons se sont avérés être négatifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Dans ce test, la spécificité diagnostique de l'analyse est de 100 %.

**Biopsie : confirmation des échantillons positifs pour le MTB résistants aux antibiotiques**

La sensibilité diagnostique du test de résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour le MTB résistants aux antibiotiques, a été évaluée en analysant les échantillons suivants :

- 40 échantillons cliniques de biopsie dopés avec un isolat de MTB résistant à la rifampicine (mutation dans le gène rpoB),
- 40 échantillons cliniques de biopsie dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG),
- 40 échantillons cliniques de biopsie dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA).

Des échantillons cliniques de biopsie négatifs pour le MTB ont été dopés à la concentration finale d'environ 5 000 CFU/ml avec des isolats de MTB certifiés par un laboratoire externe pour la présence de mutations dans l'un des trois gènes cibles en utilisant un test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD. Les échantillons ont été testés à l'aide du MDR/MTB ELITE MGB® Kit et du système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs pour le MTB	Rés. RIF (rpoB)	Rés. INH (katG)	Rés. INH (inhA)	Typage impossible
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à la rifampicine (mutation de rpoB)	40	40	0	0	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de katG)	40	0	40	0	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de inhA)	40	0	0	40	0

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à la rifampicine (mutation dans le gène rpoB) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à la rifampicine.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à l'isoniazide.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à l'isoniazide.

Dans ces tests, la sensibilité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

**Biopsie : confirmation de l'absence de mutation dans des échantillons positifs pour le MTB**

La spécificité diagnostique du test de résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour le MTB sensibles aux antibiotiques, a été évaluée en analysant 80 échantillons cliniques de biopsie dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation mais négatif pour les deux autres.

Des échantillons cliniques de biopsie négatifs pour le MTB ont été dopés à la concentration finale d'environ 5 000 CFU/ml avec des isolats de MTB certifiés par un laboratoire externe pour la présence de mutations dans l'un des trois gènes cibles en utilisant un test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD. Les échantillons ont été testés à l'aide du MDR/MTB ELITE MGB® Kit et du système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs pour le MTB	Sens. RIF (rpoB)	Sens. INH (katG)	Sens. INH (inhA)	Typage impossible
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à la rifampicine (mutation de rpoB)	40	0	40	40	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de katG)	40	40	0	40	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de inhA)	40	40	40	0	0

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène rpoB ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes katG et inhA.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène katG ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes rpoB et inhA.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène inhA ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes rpoB et katG.

Dans ces tests, la spécificité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

#### Liquides cavitaires : sensibilité et spécificité diagnostiques

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en analysant 20 échantillons cliniques de liquides cavitaires positifs pour le MTB testés en culture et 20 échantillons cliniques de liquides cavitaires dopés.

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en utilisant 40 échantillons cliniques de liquides cavitaires négatifs pour le MTB testés en culture.

Les échantillons de liquides cavitaires ont été prélevés, pré-traités (voir la section « Échantillons et contrôles »), mis en culture et certifiés comme positifs pour le MTB ou négatifs pour le MTB par un laboratoire externe. Les échantillons dopés ont été ajoutés avec des isolats sensibles aux antibiotiques à la concentration finale d'environ 20 CFU/ml. Les échantillons ont ensuite été inactivés et testés à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit et du système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

	Culture			
	Pos.	Nég.	Total	
MDR/MTB ELITE MGB Kit	Pos.	39	0	39
	Nég.	1	40	41
	Total	40	40	80

Parmi les échantillons positifs pour le MTB ou dopés, 39 échantillons sur 40 se sont avérés être positifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Dans ce test, la sensibilité diagnostique de l'analyse est de 97,5 %.

Parmi les échantillons négatifs pour le MTB, tous les échantillons se sont avérés être négatifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Dans ce test, la spécificité diagnostique de l'analyse est de 100 %.

#### Liquides cavitaires : confirmation des échantillons positifs pour le MTB résistants aux antibiotiques

La sensibilité diagnostique du test de résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour le MTB résistants aux antibiotiques, a été évaluée en analysant les échantillons suivants :

- 40 échantillons cliniques de liquides cavitaires dopés avec un isolat de MTB résistant à la rifampicine (mutation dans le gène rpoB),
- 40 échantillons cliniques de liquides cavitaires dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG),
- 40 échantillons cliniques de liquides cavitaires dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA).

Des échantillons cliniques de liquides cavitaires négatifs pour le MTB ont été dopés à la concentration finale d'environ 5 000 CFU/ml avec des isolats de MTB certifiés par un laboratoire externe pour la présence de mutations dans l'un des trois gènes cibles en utilisant un test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD. Les échantillons ont été testés à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit et du système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs pour le MTB	Rés. RIF (rpoB)	Rés. INH (katG)	Rés. INH (inhA)	Typage impossible
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à la rifampicine (mutation de rpoB)	40	40	0	0	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de katG)	40	0	40	0	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de inhA)	40	0	0	40	0

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à la rifampicine (mutation dans le gène rpoB) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à la rifampicine.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à l'isoniazide.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à l'isoniazide.

Dans ces tests, la sensibilité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

#### Liquides cavitaires : confirmation de l'absence de mutation dans des échantillons positifs pour le MTB

La spécificité diagnostique du test de résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour le MTB sensibles aux antibiotiques, a été évaluée en analysant 80 échantillons cliniques de liquides cavitaires dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation mais négatif pour les deux autres.

Des échantillons cliniques de liquides cavitaires négatifs pour le MTB ont été dopés à la concentration finale d'environ 5 000 CFU/ml avec des isolats de MTB certifiés par un laboratoire externe pour la présence de mutations dans l'un des trois gènes cibles en utilisant un test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD. Les échantillons ont été testés à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit et du système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs pour le MTB	Sens. RIF (rpoB)	Sens. INH (katG)	Sens. INH (inhA)	Typage impossible
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à la rifampicine (mutation de rpoB)	40	0	40	40	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de katG)	40	40	0	40	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de inhA)	40	40	40	0	0

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène rpoB ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes katG et inhA.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène katG ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes rpoB et inhA.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène inhA ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes rpoB et katG.

Dans ces tests, la spécificité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

#### Aspirat gastrique : sensibilité et spécificité diagnostiques

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en analysant 22 échantillons cliniques d'aspirat gastrique positifs pour le MTB testés en culture.

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en utilisant 20 échantillons cliniques d'aspirat gastrique négatifs pour le MTB testés en culture.

Les échantillons d'aspirat gastrique ont été prélevés, pré-traités (voir la section « Échantillons et contrôles »), mis en culture et certifiés comme positifs pour le MTB ou négatifs pour le MTB par un laboratoire externe. Les échantillons ont ensuite été inactivés et testés à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit et du système ELITE InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

	Culture			
	Pos.	Nég.	Total	
MDR/MTB ELITe MGB Kit	Pos.	18	0	18
	Nég.	4	20	24
	Total	22	20	42

Parmi les échantillons positifs pour le MTB ou dopés, 18 échantillons sur 22 se sont avérés être positifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITe MGB® Kit. Dans ce test, la sensibilité diagnostique de l'analyse est de 81,8 %.

Parmi les échantillons négatifs pour le MTB, tous les échantillons se sont avérés être négatifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITe MGB® Kit. Dans ce test, la spécificité diagnostique de l'analyse est de 100 %.

**Aspirat gastrique : confirmation des échantillons positifs pour le MTB résistants aux antibiotiques**

La sensibilité diagnostique du test de résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour le MTB résistants aux antibiotiques, a été évaluée en analysant les échantillons suivants :

- 20 échantillons cliniques d'aspirat gastrique dopés avec un isolat de MTB résistant à la rifampicine (mutation dans le gène rpoB),
- 20 échantillons cliniques d'aspirat gastrique dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG),
- 20 échantillons cliniques d'aspirat gastrique dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA).

Des échantillons cliniques d'aspirat gastrique négatifs pour le MTB ont été dopés à la concentration finale d'environ 5 000 CFU/ml avec des isolats de MTB certifiés par un laboratoire externe pour la présence de mutations dans l'un des trois gènes cibles en utilisant un test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD. Les échantillons ont été testés à l'aide du MDR/MTB ELITe MGB® Kit et du système ELITe InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs pour le MTB	Rés. RIF (rpoB)	Rés. INH (katG)	Rés. INH (inhA)	Typage impossible
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à la rifampicine (mutation de rpoB)	20	20	0	0	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de katG)	20	0	20	0	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de inhA)	20	0	0	20	0

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à la rifampicine (mutation dans le gène rpoB) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à la rifampicine.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à l'isoniazide.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA) ont été correctement typés comme éventuellement résistants à l'isoniazide.

Dans ces tests, la sensibilité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

**Aspirat gastrique : confirmation de l'absence de mutation dans des échantillons positifs pour le MTB**

La spécificité diagnostique du test de résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour le MTB sensibles aux antibiotiques, a été évaluée en analysant 40 échantillons cliniques d'aspirat gastrique dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation mais négatif pour les deux autres.

Des échantillons cliniques d'aspirat gastrique négatifs pour le MTB ont été dopés à la concentration finale d'environ 5 000 CFU/ml avec des isolats de MTB certifiés par un laboratoire externe pour la présence de mutations dans l'un des trois gènes cibles en utilisant un test de diagnostic moléculaire portant le marquage CE-IVD. Les échantillons ont été testés à l'aide du MDR/MTB ELITe MGB® Kit et du système ELITe InGenius en mode «Extraction + PCR» (Extract + PCR).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs pour le MTB	Sens. RIF (rpoB)	Sens. INH (katG)	Sens. INH (inhA)	Typage impossible
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à la rifampicine (mutation de rpoB)	20	0	20	20	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de katG)	20	20	0	20	0
Échantillons positifs pour le MTB, résistants à l'isoniazide (mutation de inhA)	20	20	20	0	0

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène rpoB ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes katG et inhA.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène katG ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes rpoB et inhA.

Tous les échantillons dopés avec un isolat de MTB comportant une mutation du gène inhA ont été correctement typés comme non mutés pour les gènes rpoB et katG.

Dans ces tests, la spécificité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

**Remarque :** les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et les instruments sont présentés dans la Fiche technique du produit «MDR/MTB ELITe MGB Kit», FTP 120ING.

**BIBLIOGRAPHIE**

Thierry D. et al. (1990) *Nucleic Acids Res.* **18**: 188  
 Heep M. et al. (2001) *JCM* **39**: 107 – 110  
 Seifert M. et al. (2015) *PLOS ONE* DOI 10.1371: 1 - 13  
 E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* **35**: e30  
 Manuel de laboratoire de mycobactériologie (Global Laboratory Initiative, Première édition, avril 2014).

**LIMITES DE LA PROCÉDURE**

Utiliser ce produit uniquement avec des échantillons cliniques d'expectorations, de lavages bronchoalvéolaires (LBA), d'aspirats bronchiques (AB), d'urine, de liquides cavitaires et d'aspirats gastriques préalablement liquéfiés, décontaminés et inactivés.

Ne pas utiliser ce produit avec des échantillons contenant de la mucine à une concentration supérieure à 2 % : la mucine inhibe la réaction d'amplification des acides nucléiques et peut générer des résultats non valides.

Il n'existe actuellement aucune donnée disponible en ce qui concerne la performance du produit avec les échantillons cliniques suivants : liquide céphalorachidien (LCR), matériel nécrotique, pus, selles, sang total.

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 dédiées au traitement des échantillons biologiques potentiellement infectieux et des préparations chimiques classifiées comme dangereuses, afin de prévenir les accidents pouvant avoir des conséquences potentiellement graves pour l'utilisateur et les autres personnes.

Ce produit exige de porter des vêtements spéciaux et d'utiliser des instruments dédiés au paramétrage des sessions de travail afin d'éviter tout résultat faux-positif.

En raison de différences intrinsèques entre les technologies, il est recommandé aux utilisateurs d'effectuer des études de corrélation des méthodes afin d'évaluer les différences de technologie avant d'envisager d'en utiliser une nouvelle.

Un résultat négatif obtenu avec ce produit signifie que l'ADN cible n'est pas détecté dans l'ADN extrait à partir de l'échantillon. Il n'est toutefois pas possible d'exclure le fait que l'ADN cible présente un titre plus faible que la limite de détection du produit (voir la section « Caractéristiques de performance »). Dans ce cas, le résultat pourrait être un faux-négatif.

Les résultats obtenus avec ce produit peuvent parfois être non valides en raison d'un échec du contrôle interne. Dans ce cas, l'échantillon doit être testé à nouveau, en commençant par l'extraction, ce qui peut entraîner des retards d'obtention des résultats finaux.

Les résultats obtenus avec ce produit relatifs à une éventuelle résistance du MTB à la rifampicine et/ou l'isoniazide sont limités à la détection des principales mutations, comme indiqué à la section « Principes du test ». D'autres mutations non détectées par ce produit peuvent être associées à une résistance à la rifampicine et/ou l'isoniazide. D'un autre côté, des mutations silencieuses peuvent être détectées par ce produit, mais elles ne sont pas associées à une résistance à la rifampicine et/ou l'isoniazide. Un test phénotypique de sensibilité antimicrobienne est ensuite requis pour confirmer la sensibilité du MTB à la rifampicine et/ou l'isoniazide.

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.

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

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, il existe un risque résiduel d'obtention de résultats non valides, faux-positifs et faux-négatifs avec ce produit. Ce risque résiduel ne peut pas être éliminé ni réduit par la suite. Dans certains cas, ce risque résiduel pourrait contribuer à prendre de mauvaises décisions, avec des effets potentiellement dangereux pour le patient.

**PROBLÈMES ET SOLUTIONS**

<b>Réaction du contrôle positif non valide</b>	
<b>Causes possibles</b>	<b>Solutions</b>
Erreur de paramétrage de la session.	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 l'assistance technique d'ELITechGroup.

<b>Réaction du contrôle négatif non valide</b>	
<b>Causes possibles</b>	<b>Solutions</b>
Erreur de paramétrage de la session.	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 de nouvelles aliquotes des PCR Mix.
Contamination de la zone d'extraction, des portoirs ou des blocs 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 l'assistance technique d'ELITechGroup.

<b>Réaction de l'échantillon non valide</b>	
<b>Résultats non concluants/Typage impossible/Typage non valide</b>	
<b>Causes possibles</b>	<b>Solutions</b>
Erreur de paramétrage de la session.	Vérifier la position du PCR Mix et de l'échantillon. Vérifier le volume du PCR Mix et de l'échantillon.
Dégradation du contrôle interne.	Utiliser de nouvelles aliquotes du contrôle interne.
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification avec une dilution à 1:3 de l'échantillon élué, dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, au cours d'une session « PCR uniquement » (PCR Only). Répéter l'extraction et l'amplification de l'échantillon avec une dilution à 1:2, dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, au cours d'une session « Extraction + PCR » (Extract + PCR).
Dégradation du PCR Mix.	Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.
Erreur de l'instrument.	Contactez l'assistance technique d'ELITechGroup.

<b>Erreur 30103</b>	
<b>Causes possibles</b>	<b>Solutions</b>
Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon.	En cas d'observation d'une amplification significative sur la courbe de PCR : Répéter l'amplification avec une dilution à 1:10 de l'échantillon élué, dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, au cours d'une session « PCR uniquement » (PCR Only) ou - répéter l'extraction avec une dilution à 1:10 de l'échantillon primaire, dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, au cours d'une session « Extraction + PCR » (Extract + PCR).

**LÉGENDE DES SYMBOLES**

**REF**

Numéro de référence.



Limite supérieure de température.

**LOT**

Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).

**IVD**

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Conforme aux exigences de la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*.



Contenu suffisant pour « N » tests.



Attention, consulter le mode d'emploi.

**CONT**

Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

**NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE**

Ce produit contient des réactifs fabriqués par Life Technologies Corporation et commercialisés selon des accords de licence entre ELITechGroup S.p.A. et ses filiales et Life Technologies Corporation. Le prix d'achat de ce produit inclut des droits, limités et non transférables, qui permettent d'utiliser uniquement 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, Life Technologies Corporation, 5781 Van Allen Way, Carlsbad, CA 92008. Téléphone : +1(760)603-7200. Fax : +1(760)602-6500. E-mail : outlicensing@thermofisher.com.

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

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

# MDR/MTB ELITE MGB® kit used with ELITE InGenius®

Ref: RTS120ING



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

## A. Intended use

The «MDR/MTB ELITE MGB® Kit» is part of a qualitative nucleic acid amplification assay to detect *Mycobacterium tuberculosis* complex (*M. tuberculosis*, *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*) DNA and to identify the main mutations associated with resistance to Rifampicin and/or Isoniazid.

The product may be used for two different purposes:

- as an aid in the diagnosis of tuberculosis from Mycobacterium tuberculosis complex, in association with the patient's clinical data and other laboratory test results, in particular the culture methods for mycobacterium,
- as an aid in the diagnosis of tuberculosis and genotypic resistance of Mycobacterium tuberculosis complex, in association with the patient's clinical data and other laboratory test results, in particular phenotypic testing for antimicrobial susceptibility.

The assay is CE-IVD validated in combination with the instrument **ELITE InGenius®**.

## B. Amplified sequence

Mix	Target	Gene	Fluorophore
TB1	<b>MTB Complex</b>	IS6110	FAM
	<b>Rifampicin resistance</b>	rpoB gene (rpoB2, rpoB3, rpoB4)	AP639; AP525; AP593
TB2	<b>Rifampicin resistance</b>	rpoB gene (rpoB1)	AP639
	<b>Isoniazid resistance</b>	katG	FAM
		inhA	AP593
TB1/TB2	<b>Internal Control</b>	Artificial sequence	AP680

## C. Validated matrix

- › Sputum, bronchial aspirates (BA), bronchoalveolar lavages (BAL), urine, biopsies, cavity fluids and gastric aspirates previously liquefied, decontaminated and inactivated.

## D. Kit content

TB1 PCR Mix	TB2 PCR Mix	
Ready-to-use PCR Master Mix 4 tubes of 280 µL 7 freeze-thaw cycles per tube	Ready-to-use PCR master Mix 4 tubes of 280 µL 7 freeze-thaw cycles per tube	
		
› 48 reactions per kit	› Storage Temperature: -20°C	› Maximum shelf-life: 24 months

## E. Material required not provided in the kit

- › ELITE InGenius instrument: INT030
- › ELITE InGenius SP 200 extraction cartridges: INT032SP200
- › ELITE InGenius PCR Cassette amplification cartridges: INT035PCR
- › ELITE InGenius SP 200 Consumable Set consumables for extraction: INT032CS
- › MDR/MTB- ELITE Positive Control : CTR120ING
- › CPE- Internal Control : CTCPE
- › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000
- › 300 µL Filter Tips Axygen: TF-350-L-R-S

## F. ELITE InGenius protocol

- |  |        |                              |         |
|--|--------|------------------------------|---------|
| › Sample volume                        | 200 µL | › Unit of qualitative result | CFU/mL  |
| › Internal Control volume              | 10 µL  | › Frequency of controls      | 15 days |
| › Total eluate volume                  | 100 µL |                              |         |
| › PCR eluate input volume for each mix | 20 µL  |                              |         |
| › Q-PCR Mix volume for each mix        | 20 µL  |                              |         |

## G. Performance

Sample	Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity
MTB Complex	Sputum	6 CFU/mL	100% 50/50*	98% 47/48*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Sputum	-	100% 55/55*	100% 47/47*
MTB Complex	BAL/BA	6 CFU/mL	91.3% 42/46*	97.5% 39/40*
Rifampicin and Isoniazid resistance	BAL/BA	-	100% 119/119*	100% 119/119*
MTB Complex	Urine	20 CFU/mL	80% 16/20*	100% 20/20*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Urine	-	100% 60/60*	100% 60/60*
MTB Complex	Biopsy	20 CFU/mL	90.5% 38/42*	100% 40/40*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Biopsy	-	100% 120/120*	100% 120/120*
MTB Complex	Cavitary Liquid	20 CFU/mL	97.5% 39/40*	100% 40/40*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Cavitary Liquid	-	100% 120/120*	100% 120/120*
MTB Complex	Gastric aspirates	20 CFU/mL	81.8% 18/22*	100% 20/20*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Gastric aspirates	-	100% 60/60*	100% 60/60*

\*confirmed samples/ tested samples

## H. Procedures

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, or extraction only, or PCR only.

### Before analysis

1. Switch on ELITE InGenius Identification with username and password Select the mode "Closed"	2. Verify controls: TB pos. and neg. controls in the "Control menu" NB: Both have been run, approved and not expired	3. Thaw TB1 and TB2 PCR Mixes and the Internal Control tubes Vortex gently Spin down 5 sec
---	--	---

## Procedure 1 - Complete run: Extraction + PCR

1. Select "Perform Run" on the touch screen



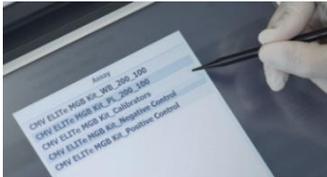
2. Verify the extraction volumes:  
Input: "200 µL", eluate: "100 µL"



3. Scan the sample barcodes with hand-held barcode reader or type the sample ID



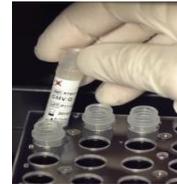
4. Select the "Assay protocol" of interest



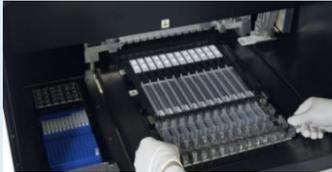
5. Select the sample position:  
"Extraction tube"



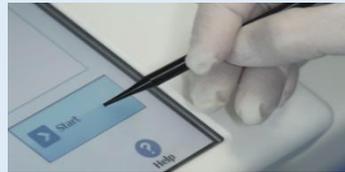
6. Load the PCR Mixes and the Internal Control in the inventory block



7. Load: PCR cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip, Extraction tube 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 rack n°4

7. Load the PCR cassette rack  
Load the PCR Mixes in the inventory block

8. Close the door  
Start the run

9. 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" and set the sample position: Extraction tube

6. Load the Internal Control in the inventory block

7. Load: Extraction cartridge, Elution tube, Tip cassette, Extraction tube racks

8. Close the door  
Start the run

9. Archive the eluate sample

*\*confirmed samples/ tested samples*