

Instructions for use

Bordetella ELITe MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN



REF RTS140ING

UDI 08033891486785

CE
0123

IVD

HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Rév.	Avis de modification	Date (jj/mm/aa)
06-R	Mise à jour de l'emballage du PCR Mix tube (paragraphe « Matériel fourni ») Mise à jour du paragraphe « Autres produits requis » Mise à jour du paragraphe « Avis aux utilisateurs »	08/09/25
05-R	Mise à jour du paragraphe « Symboles » avec le symbole « Consulter le mode d'emploi » Mise à jour du paragraphe « Note pour l'acquéreur : licence limitée »	24/03/25
04-R	Extension de l'utilisation sur l'instrument automatisé et intégré ELiTe BeGenius avec les matrices d'aspirat nasopharyngé. Nouveaux graphiques et contenu du mode d'emploi.	31/10/24
03-R	Mise à jour après la révision par l'ON	12/06/23
02-R	Mise à jour pour garantir la conformité aux exigences du Règlement (UE) 2017/746 relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> (IVDR).	19/01/23
00-02	Développement de nouveaux produits et modifications ultérieures	—

NOTE!

Conformément à la directive IVDD, les lots de produit identifiés par les numéros de LOT suivants sont toujours mis sur le marché jusqu'à leur date de péremption en vertu de l'article 110 de l'IVDR. En cas de possession de ces lots de produit, contacter le personnel d'ELiTechGroup pour demander la révision précédente des modes d'emploi correspondants.

RÉF. DU PRODUIT	Numéro de lot	Date de péremption
RTS140ING	U0224-095	28/02/26
RTS140ING	U0524-028	28/02/26
RTS140ING	U0824-001	31/07/26

Conformément à la directive IVDD, les lots de produit du Contrôle positif toujours mis sur le marché (identifiés par les numéros de LOT indiqués dans le mode d'emploi du Contrôle positif) sont techniquement compatibles avec la nouvelle version IVDR du kit d'amplification et peuvent être utilisés, jusqu'à épuisement, en association avec la nouvelle version IVDR du kit d'amplification et conformément à son application.

SOMMAIRE

1 APPLICATION	4
2 PRINCIPE DU TEST	4
3 DESCRIPTION DU PRODUIT	4
4 MATÉRIEL FOURNI.....	5
5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	5
6 AUTRES PRODUITS REQUIS.....	5
7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS.....	6
8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES.....	7
9 PROCÉDURE ELITe InGenius	9
10 PROCÉDURE AVEC LE ELITe BeGenius	15
11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	19
12 BIBLIOGRAPHIE	28
13 LIMITES DE LA PROCÉDURE.....	29
14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS	30
15 LÉGENDE DES SYMBOLES	32
16 AVIS AUX UTILISATEURS.....	33
17 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	33
Appendix A QUICK START GUIDE.....	34

1 APPLICATION

Le produit **Bordetella ELITE MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test qualitatif de PCR en temps réel multiplexe des acides nucléiques pour la détection et l'identification de l'ADN génomique, extrait d'échantillons cliniques, de ***Bordetella pertussis* (BP)**, ***Bordetella parapertussis* (BPP)** et ***Bordetella holmesii* (BH)**.

Le test est validé en association avec les instruments **ELITE InGenius®** et **ELITE BeGenius®**, des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, de PCR en temps réel et d'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons humains d'aspirat nasopharyngé.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic des infections à *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* et *Bordetella holmesii* chez les patients suspectés de présenter une infection par Bordetella.

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

2 PRINCIPE DU TEST

Le test est une PCR qualitative en temps réel qui détecte l'ADN de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* et *Bordetella holmesii* isolé à partir d'échantillons puis amplifié dans une PCR en temps réel à l'aide du réactif du test, le **BORD PCR Mix**, qui contient des amorces et des sondes dotées de la technologie ELITE MGB.

Les sondes ELITE MGB sont activées lorsqu'elles s'hybrident aux produits de PCR associés. **ELITE InGenius** **ELITE BeGenius** surveille l'augmentation de la fluorescence et calcule les cycles seuils (Ct).

Dans les sondes ELITE MGB, les fluorophores sont désactivés lorsque la sonde est à l'état simple brin et enroulée de manière aléatoire. Les fluorophores sont actifs dans le duplex sonde/amplicon étant donné que le désactivateur est spatialement séparé du fluorophore. Noter que le fluorophore n'est pas clivé pendant la PCR et peut être utilisé pour l'analyse de dissociation et le calcul de la température de fusion.

3 DESCRIPTION DU PRODUIT

Le **Bordetella ELITE MGB Kit** fournit le réactif du test, le **BORD PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amorces et les sondes spécifiques pour :

- la séquence répétée **IS481** de *B. pertussis* et *B. holmesii*, détectée dans le Canal **IS481** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par un fragment non fluorescent et marquée par le colorant FAM,
- le promoteur du gène **ptxA** de *B. pertussis*, détecté dans le Canal **BP** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par un fragment non fluorescent et marquée par le colorant AquaPhluor® 639 (AP639),
- le gène **recA** de *B. holmesii*, détecté dans le Canal **BH** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par un fragment non fluorescent et marquée par le colorant AquaPhluor 690 (AP690),
- la séquence répétée **IS1001** de *B. parapertussis*, détectée dans le Canal **BPP** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par un fragment non fluorescent et marquée par le colorant AquaPhluor 593 (AP593),
- le Contrôle interne (**IC**), spécifique pour la séquence artificielle **IC2**, détecté dans le Canal **IC** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par un fragment non fluorescent et marquée par le colorant AquaPhluor 525 (AP525).

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

Le produit **Bordetella ELITE MGB Kit** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **96 tests** sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius (12 tests avec chaque tube)**, en utilisant 20 µL par réaction.

Le **Bordetella ELITE MGB Kit** peut également être utilisé en association avec des instruments équivalents.

4 MATÉRIEL FOURNI

Tableau 1

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
BORD PCR Mix réf. RTS140ING	Mélange de réactifs pour la PCR en temps réel dans un tube doté d'un capuchon NATUREL	8 x 280 µL	-

5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.
- Agitateur de type vortex.
- Centrifugeuse de paillasse (~5 000 tr/min).
- Microcentrifugeuse de paillasse (~13 000 tr/min).
- Micropipettes et embouts stériles avec filtre pour aérosols ou embouts stériles à déplacement positif (plage de volumes : 0,5-1000 µL).
- Tubes stériles à capuchon vissant de 2,0 mL (Sarstedt, réf. 72.694.005).
- Tubes stériles à capuchon vissant de 0,5 mL (Sarstedt, réf. 72.730.005)
- Eau de qualité biologie moléculaire.

6 AUTRES PRODUITS REQUIS

Les réactifs pour l'extraction de l'ADN des échantillons, le contrôle interne d'extraction et d'inhibition, les contrôles positif et négatif d'amplification et les consommables ne sont **pas** fournis avec ce produit.

Pour l'extraction automatisée des acides nucléiques, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats des échantillons, les produits suivants sont requis.

Tableau 2

Instruments et logiciels	Produits et réactifs
ELITE InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, réf. INT030). ELITE InGenius Software version 1.3.0.19 (ou versions ultérieures). BORD ELITE_PC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif. BORD ELITE_NC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif. BORD ELITE_NPA_200_100, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons d'aspirat nasopharyngé.	Bordetella - ELITE Positive Control (EG SpA, réf. CTR140ING). CPE - Internal Control (EG SpA, réf. CTRCPE). ELITE InGenius SP200 (EG SpA, réf. INT032SP200) Consommables pour ELITE InGenius et ELITE BeGenius (voir le mode d'emploi des instruments ELITE InGenius et ELITE BeGenius)
ELITE BeGenius (EG SpA, réf. INT040). ELITE BeGenius Software version 2.3.0 (ou versions ultérieures). BORD ELITE_Be_PC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif. BORD ELITE_Be_NC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Negative Control. BORD ELITE_Be_NPA_200_100, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons d'aspirat nasopharyngé.	

7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

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

7.1 Avertissements et précautions d'ordre général

Manipuler et éliminer tous les échantillons biologiques comme s'ils étaient infectieux. Éviter tout contact direct avec les échantillons biologiques. Éviter de provoquer des éclaboussures ou des pulvérisations. Les tubes, embouts et tout autre matériel qui a été en contact avec les échantillons biologiques doivent être traités pendant au moins 30 minutes avec de l'hypochlorite de sodium à 3 % (eau de Javel) ou autoclavés pendant une (1) heure à 121 °C avant d'être mis au rebut.

Manipuler et éliminer tous les réactifs et l'ensemble du matériel qui ont été utilisés pour réaliser le test comme s'ils étaient 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. Éviter tout contact des réactifs d'extraction avec l'hypochlorite de sodium (eau de Javel).

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

Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.

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

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

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

Lire attentivement toutes les instructions indiquées 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.

7.2 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 des échantillons ou à la contamination des échantillons par les produits de PCR.

Il est nécessaire d'utiliser des blouses de laboratoire, des gants et des instruments dédiés à la session de travail. Il est nécessaire de disposer de zones distinctes pour le test de biologie moléculaire et le test de culture microbiologique. Ne jamais manipuler la culture liquide ou solide dans la zone dédiée aux réactions d'extraction/d'amplification.

Les échantillons doivent être adaptés et, si possible, dédiés à ce type d'analyse. Les échantillons doivent être manipulés sous une hotte à flux laminaire. Les pipettes utilisées pour manipuler les échantillons doivent être exclusivement utilisées à cette fin spécifique. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou 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 réactifs doivent être manipulés sous une hotte à flux laminaire. Les pipettes utilisées pour la manipulation des réactifs doivent être utilisées exclusivement à cette fin. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou 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 produits d'extraction doivent être manipulés de manière à éviter leur dispersion dans l'environnement et à prévenir toute contamination de la zone de travail de l'instrument.

Les PCR Cassettes (Cassettes de PCR) doivent être manipulées avec précaution et ne doivent jamais être ouvertes afin d'éviter la diffusion des produits de PCR et toute contamination croisée.

7.3 Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Tableau 3

Composant	Température de stockage	Utilisation après la première ouverture	Cycles de congélation/décongélation	Stabilité à bord de l'instrument (ELITE InGenius et ELITE BeGenius)
BORD PCR Mix	-20 °C ou température plus basse (à l'abri de la lumière)	un mois	jusqu'à sept	jusqu'à sept sessions d'analyse distinctes* de trois heures chacune ou jusqu'à 7 heures consécutives (2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse)

* avec congélation intermédiaire

8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

8.1 Échantillons

Ce produit est destiné à être utilisé sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** avec les échantillons cliniques suivants, identifiés et manipulés selon les directives du laboratoire, et prélevés, transportés et conservés dans les conditions suivantes :

Tableau 4

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Aspirat nasopharyngé	-	≤ 2 jours	≤ 7 jours	≤ 1 mois	> 1 mois

Il est recommandé de diviser les échantillons en aliquotes avant la congélation afin d'éviter des cycles répétés de congélation/décongélation. En cas d'utilisation d'échantillons congelés, les décongeler juste avant l'extraction afin d'éviter une éventuelle dégradation des acides nucléiques.

Utiliser les protocoles de test (Assay Protocols) suivants pour procéder au test des échantillons sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**. Ces protocoles de DIV ont été spécifiquement validés avec les ELITE MGB Kits et le **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** avec les matrices indiquées.

Tableau 5 Protocoles de test pour le Bordetella ELITE MGB Kit

Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
Aspirat nasopharyngé	ELITE InGenius	BORD ELITE_NPA_200_100	Positif/ Négatif	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 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
	ELITE BeGenius	BORD ELITE_Be_NPA_200_100		

Pour tous les protocoles, 200 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube d'extraction (pour le ELITE InGenius) ou un tube Sarstedt de 2 mL (pour le ELITE BeGenius).

NOTE!

Le pipetage des échantillons dans le **tube d'extraction** ou le **tube Sarstedt de 2 ml** peut **entraîner une contamination**. Utiliser les pipettes appropriées et suivre toutes les recommandations indiquées à la section 7 AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS page 6.

Les acides nucléiques purifiés peuvent être laissés à température ambiante pendant 16 heures et conservés à -20 °C ou à une température plus basse pendant un mois maximum.

Se reporter au paragraphe « Substances potentiellement interférentes » de la section [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 19](#) pour vérifier les informations concernant les substances interférentes.

8.2 Contrôles de la PCR

Les résultats des contrôles de la PCR doivent être générés et approuvés pour chaque lot de réactifs de PCR.

- Pour le Positive Control, utiliser le produit **Bordetella - ELITE Positive Control** (non inclus dans ce kit) avec les Assay Protocols (Protocoles de test) **BORD ELITE_PC** ou **BORD ELITE_Be_PC**.
- Pour le Negative Control, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **BORD ELITE_NC** ou **BORD ELITE_Be_NC**.

NOTE!

Les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** permettent de générer et de stocker la validation des contrôles de la PCR pour chaque lot de réactifs de PCR. Les résultats des contrôles de la PCR expirent au bout de **15 jours**, après quoi il est nécessaire de réanalyser le Positive Control et le Negative Control. Les contrôles de la PCR doivent être à nouveau analysés en cas de survenue de l'une des situations suivantes :

- un nouveau lot de réactifs est utilisé,
- les résultats de l'analyse du contrôle de qualité (se reporter au paragraphe suivant) sont en dehors des spécifications,
- le **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** subit une procédure de maintenance ou d'entretien majeure.

8.3 Contrôles de qualité

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

9 PROCÉDURE ELITE InGenius

La procédure d'utilisation du **Bordetella ELITE MGB Kit** avec le **ELITE InGenius** comporte trois étapes :

Tableau 6

ÉTAPE 1	Vérification de la préparation du système	
ÉTAPE 2	Paramétrage de la session d'analyse	A) Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])
		B) Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
		C) Analyse du Positive Control et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
ÉTAPE 3	Examen et approbation des résultats	1) Validation des résultats du Positive Control et du Negative Control
		2) Validation des résultats des échantillons
		3) Rapport des résultats de l'échantillon

9.1 ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre le **ELITE InGenius** en marche et se connecter en mode « **CLOSED** » (FERMÉ),
- dans le menu « Controls » (Contrôles) de la page Home (Accueil), vérifier que les contrôles de PCR (**Positive Control**, **Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **PCR Mix**, analyser les contrôles de PCR comme décrit dans les sections suivantes,
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et en utilisant les protocoles de test (Assay Protocols) fournis par EG SpA (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).

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

9.2 ÉTAPE 2 - Paramétrage de la session d'analyse

Le **Bordetella ELITE MGB Kit** peut être utilisé sur l'instrument **ELITE InGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),

B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement]),

C. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement]).

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

NOTE!

Le **ELITE InGenius** peut être connecté au « Laboratory Information System » (système de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet de télécharger les informations relatives à la session d'analyse. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

Avant de paramétrer une analyse :

Décongeler les tubes de **PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer **12 tests** dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

Conserver le **PCR Mix** à l'abri de la lumière lors de la décongélation, car ce réactif est photosensible.

Pour paramétrer l'un des trois types d'analyse, suivre les étapes ci-dessous tout en se reportant à la GUI

Tableau 7

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante. Pour ce test, 200 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube d'extraction préalablement étiqueté.	Décongeler les tubes d'éluion contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Positive Control à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Chaque tube permet d'effectuer 4 réactions.
2	Décongeler les tubes de CPE nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions.	Non applicable	Préparer le Negative Control en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'éluion) fourni avec le ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
4	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion de l'extraction) est de 100 µL.
5	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.	Non applicable

Tableau 7 (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
6	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »). Saisir le numéro de lot et la date de péremption du Positive Control et de l'eau de qualité biologie moléculaire.
7	Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).
8	Sélectionner la position de chargement de l'échantillon en tant que « Extraction Tube » (Tube d'extraction) dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons).	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'éluion [ligne du bas]).	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'éluion [ligne du bas]).
9	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
10	Charger le CPE et le PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot, la date de péremption le nombre de réactions pour chaque tube du PCR Mix.	Charger le PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot, la date de péremption et le nombre de réactions pour chaque tube du PCR Mix.	Charger le PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot, la date de péremption et le nombre de réactions pour chaque tube du PCR Mix.
11	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
12	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
13	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
14	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR), les cartouches d'extraction ELITE InGenius SP 200, et tous les consommables requis et échantillons à extraire.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes d'éluion avec les échantillons extraits.	Charger la PCR Cassette, le Positive Control et le Negative Control.
15	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
16	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
17	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

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

NOTE!

à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le **tube d'éluion** doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 ± 10 °C pendant un mois maximum. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

NOTE!

À la fin de l'analyse, le **PCR Mix** peut être retiré de l'instrument, bouché et stocké à -20 °C ou à une température plus basse, ou peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 7 heures (pour 2 sessions d'analyse d'environ 3 heures chacune plus la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

NOTE!

À la fin de l'analyse, le **Positive Control** restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C ou à une température plus basse. Éviter de renverser le **Positive Control**. Le **Negative Control** restant doit être jeté.

NOTE!

Le **Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

NOTE!

À la fin de l'analyse, la **PCR Cassette** (Cassette de PCR) et les autres consommables doivent être éliminés conformément à toutes les réglementations gouvernementales et environnementales. Éviter de renverser les produits de la réaction.

9.3 ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

L'instrument **ELiTe InGenius** surveille les signaux de fluorescence de la cible et du Internal Control pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) pour générer des courbes de PCR qui sont ensuite interprétées en résultats.

À la fin de l'analyse, l'écran « Results Display » (Affichage des résultats) s'affiche automatiquement. Cet écran présente les résultats et les informations de l'analyse. À partir de cet écran, les résultats peuvent être approuvés et les rapports imprimés ou enregistrés (« Sample Report » [Rapport échantillons] ou « Track Report » [Rapport des positions]). Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

NOTE!

Le **ELiTe InGenius** peut être connecté au « Laboratory Information System » (Système de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet de charger les résultats de la session d'analyse pour les transmettre au centre de données du laboratoire. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

Le **ELiTe InGenius** génère les résultats à l'aide du **Bordetella ELiTe MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

1. validation des résultats de Positive Control et Negative Control,
2. validation des résultats des échantillons,
3. rapport des résultats de l'échantillon.

9.3.1 Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif d'amplification

Le **ELiTe InGenius software** interprète les résultats de la PCR pour la cible des réactions du Contrôle positif et du Contrôle négatif avec les paramètres des protocoles de test (Assay Protocols) **ELiTe_PC** et **ELiTe_NC**. Les valeurs Ct résultantes sont converties en concentration et utilisées pour vérifier le système (lots de réactifs et instrument).

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

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

Les résultats de l'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif sont utilisés par le **ELiTe InGenius Software** pour paramétrer les « Control Charts » (Graphiques de contrôle) surveillant l'exécution des étapes de l'amplification. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

NOTE!

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

NOTE!

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

9.3.2 Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELiTe InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour les cibles (canaux **IS481**, **BP**, **BH** et **BPP**) et le Internal Control (Contrôle interne) (canal **IC**) avec les paramètres de protocole de test (Assay Protocol) **BORD ELiTe_NPA_200_100**.

Les résultats sont présentés dans l'écran « Results Display » (Affichage des résultats).

Les résultats de l'échantillon peuvent être approuvés lorsque les deux conditions du tableau ci-dessous sont vraies.

Tableau 8

1) Positive Control	Statut
BORD Positive Control	APPROUVÉ
2) Negative Control	Statut
BORD Negative Control	APPROUVÉ

Les résultats des échantillons sont automatiquement interprétés par le **ELiTe InGenius Software** en utilisant les paramètres du protocole de test (Assay Protocol). Les messages des résultats possibles d'un échantillon sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

Pour chaque échantillon, le système rapporte une combinaison des messages suivants spécifiant si les ADN des agents pathogènes sont détectés ou non détectés.

Tableau 9

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
IS481: DNA detected (IS481 : ADN détecté).	L'ADN de <i>B. pertussis</i> ou <i>B. holmesii</i>(IS481) a été détecté dans l'échantillon. Remarque : lorsque l'ADN de IS481 est détecté, il est également possible de déterminer le typage de l'ADN de <i>B. pertussis</i> (BP) ou <i>B. holmesii</i> (BH).
IS481: DNA detected other related species (IS481 : ADN détecté, autre espèce apparentée).	De l'ADN analogue à IS481 issu d'un organisme non souhaitable a été détecté dans l'échantillon.
IS481: DNA not detected or below LoD (IS481 : ADN non détecté ou inférieur à LoD).	L'ADN de <i>B. pertussis</i> et <i>B. holmesii</i> (IS481) n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour ces agents pathogènes ou leur concentration est inférieure à la limite de détection de l'analyse.
BP: typing positive (BP : typage positif).	L'ADN de <i>B. pertussis</i> a été détecté dans l'échantillon. Remarque : lorsque la cible BP est détectée, la cible IS481 doit également être détectée.

Tableau 9 (continued)

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
BP: typing not feasible (BP : typage impossible).	Cette cible spécifique à <i>B. pertussis</i> n'a pas été détectée dans l'échantillon. Vérifier également les résultats de la cible IS481.
BH: typing positive (BH : typage positif).	L'ADN de <i>B. holmesii</i> a été détecté dans l'échantillon. Remarque : lorsque la cible BH est détectée, la cible IS481 doit également être détectée.
BH: typing not feasible (BH : typage impossible).	Cette cible spécifique à <i>B. holmesii</i> n'a pas été détectée dans l'échantillon. Vérifier également les résultats de la cible IS481.
BPP: DNA detected (BPP : ADN détecté).	L'ADN de <i>B. parapertussis</i> a été détecté dans l'échantillon.
BPP: DNA not detected or below LoD (BPP : ADN non détecté ou inférieur à LoD).	L'ADN de <i>B. parapertussis</i> n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour cet agent pathogène ou sa concentration est inférieure à la limite de détection de l'analyse.
Invalid - Retest Sample (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon).	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Contrôle interne (en raison, par exemple, d'une extraction incorrecte, d'un transfert d'inhibiteurs). Le test doit être répété.

Échantillons rapportés comme « Invalid - Retest Sample » (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon) : dans ce cas, l'ADN du Contrôle Interne n'a pas été efficacement détecté, ce qui peut être dû à des problèmes lors des étapes de prélèvement de l'échantillon, de prétraitement, d'extraction ou de PCR (par ex. échantillonnage incorrect, dégradation ou perte d'ADN pendant l'extraction ou inhibiteurs dans l'éluat), ce qui peut générer des résultats incorrects. S'il reste un volume d'éluat suffisant, l'éluat peut être à nouveau testé (pur ou dilué), par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR seulement). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'un nouvel échantillon en utilisant le mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) (se reporter à la section « [14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS page 30](#) »).

Les échantillons rapportés comme « IS481:DNA Not Detected or below the LoD » (IS481 : ADN non détecté ou inférieur à LoD) ou « BPP: DNA Not Detected or below the LoD » (BPP : ADN non détecté ou inférieur à LoD) sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter l'ADN des cibles. Dans ce cas, l'échantillon peut être négatif pour l'ADN des cibles ou l'ADN des cibles est présent à une concentration inférieure à la limite de détection du test (se reporter à la section « [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 19](#) »).

Les échantillons rapportés comme « IS481: DNA detected other related species » (IS481 : ADN détecté, autre espèce apparentée) sont appropriés pour l'analyse et de l'ADN analogue à IS481 issu d'un organisme non souhaitable a été détecté dans l'échantillon. Dans ce cas, l'échantillon est rapporté comme positif pour la cible IS481 mais l'ADN cible spécifique de *B. holmesii* ou l'ADN cible spécifique de *B. pertussis* n'a pas été détecté dans l'échantillon.

Lorsque l'ADN du gène à copies multiples IS481 est détecté, dans les échantillons faiblement positifs, l'ADN cible spécifique de *B. pertussis* (BP) ou l'ADN cible spécifique de *B. holmesii* (BH) peut ne pas être détecté en raison des différences de nombre de copies des gènes cibles spécifiques (par exemple, le promoteur du gène *ptxA* et le gène *recA* sont présents en une seule copie dans BP et BH, respectivement). L'échantillon est toutefois positif pour *B. pertussis* ou pour *B. holmesii*, mais l'identification ne sera pas possible.

NOTE!

les résultats obtenus avec ce test doivent être interprétés en association avec l'ensemble des observations cliniques pertinentes et des résultats du laboratoire.

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

9.3.3 Rapport des résultats de l'échantillon

- Les résultats de l'échantillon sont stockés dans la base de données et les rapports peuvent être exportés sous forme de « Sample Report » (Rapport échantillons) et « Track Report » (Rapport des positions).
- Le « Sample Report » (Rapport échantillons) présente les détails des résultats par échantillon sélectionné (SID).
- Le « Track Report » (Rapport des positions) présente les détails des résultats par position sélectionnée.
- Les « Sample Report » (Rapport échantillons) et « Track Report » (Rapport des positions) peuvent être imprimés et signés par le personnel agréé.

10 PROCÉDURE AVEC LE ELITE BeGenius

La procédure d'utilisation du **Bordetella ELITE MGB Kit** avec le **ELITE BeGenius** comporte trois étapes :

Tableau 10

ÉTAPE 1	Vérification de la préparation du système	
ÉTAPE 2	Paramétrage de la session d'analyse	A) Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])
		B) Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])
		C) Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
ÉTAPE 3	Examen et approbation des résultats	1) Validation des résultats du Positive Control et du Negative Control
		2) Validation des résultats des échantillons
		3) Rapport des résultats de l'échantillon

10.1 ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre le ELITE BeGenius en marche et se connecter en mode « **CLOSED** » (FERMÉ),
- dans le menu « Controls » (Contrôles) de la page Home (Accueil), vérifier que les contrôles de PCR (**Positive Control, Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **PCR Mix**, analyser les contrôles de PCR comme décrit dans les sections suivantes,
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et l'utilisation des protocoles de test fournis par EG SpA (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).

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

10.2 ÉTAPE 2 - Paramétrage de la session d'analyse

Le **Bordetella ELITE MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITE BeGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

- une analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- une analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement]),
- une analyse (PCR Only [PCR seulement]) Positive Control et Negative Control.

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

NOTE!

Le **ELITE BeGenius** peut être connecté au « Laboratory Information System » (système de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet de télécharger les informations relatives à la session d'analyse. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

Avant de paramétrer une analyse :

Décongeler les tubes de **PCR Mix** nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer 12 tests dans des conditions optimisées (2 tests ou plus par session d'analyse). Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.

NOTE!

Conserver le **PCR Mix** à l'abri de la lumière lors de la décongélation, car ce réactif est photosensible.

Pour paramétrer l'un des trois types d'analyse, suivre les étapes ci-dessous tout en se reportant à la GUI :

Tableau 11

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante. Pour ce test, 200 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube Sarstedt de 2 mL préalablement étiqueté.	Si nécessaire, décongeler les « Elution tubes » (Tubes d'éluion) contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Positive Control à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Chaque tube permet d'effectuer 4 réactions.
2	Décongeler les tubes de CPE nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions.	Non applicable	Préparer le Negative Control en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution Tube » (Tube d'éluion) fourni avec le ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil)	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
4	Retirer tous les « Racks » de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
5	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
6	Charger les échantillons dans le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons). Lorsque des tubes secondaires « 2 mL Tubes » (Tubes de 2 mL) sont chargés, utiliser les adaptateurs bleus pour le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons).	Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Rack d'éluion).	Charger les tubes de Positive Control et Negative Control dans le « Elution Rack » (Portoir d'éluion).

Tableau 11 (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
7	Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 5 » (L5). Si nécessaire, insérer le « Sample ID » (ID échantillon) (SID) pour chaque « Position » utilisée (si des tubes secondaires sont chargés, les marquer « 2 mL Tube » (Tube de 2 mL). Si les tubes secondaires ne comportent pas de code-barres, saisir manuellement le « Sample ID » [ID échantillon]).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (Volume d'élution de l'extraction).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 100 µL.	Non applicable	Non applicable
10	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
11	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
	Remarque : En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6.		Non applicable
12	Charger les « Elution tubes » (Tubes d'élution) dans le « Elution Rack » (Rack d'élution) (les tubes d'élution peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité).	Non applicable	Non applicable
13	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élution) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure en utilisant la « Lane 2 » (L2).	Non applicable	Non applicable
14	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Non applicable	Non applicable
15	Charger le CPE et le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution).

Tableau 11 (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
16	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque réactif PCR Mix et/ou CPE, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque réactif PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élution) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque réactif PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
17	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
18	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
19	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
20	Charger le « PCR Rack » avec la « PCR Cassette » dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » avec la « PCR Cassette » dans la « Inventory Area » (Zone de stockage).	Charger le « PCR Rack » avec la « PCR Cassette » dans la « Inventory Area » (Zone de stockage).
21	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
22	Charger le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELiTe InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis.	Non applicable	Non applicable
23	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
24	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

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

NOTE!

à la fin de l'analyse, l'échantillon extrait restant dans le **tube d'élution** doit être retiré de l'instrument, bouché, identifié et conservé à -20 ± 10 °C pendant un mois maximum. Éviter de renverser l'échantillon extrait.

NOTE!

À la fin de l'analyse, le **PCR Mix** peut être retiré de l'instrument, bouché et stocké à -20 °C ou à une température plus basse ou peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 7 heures (2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

NOTE!

À la fin de l'analyse, le **Positive Control** restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C ou à une température plus basse. Éviter tout déversement du Positive Control. Le **Negative Control** restant doit être jeté.

NOTE!

Le **Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

NOTE!

À la fin de l'analyse, la **PCR Cassette** (Cassette de PCR) et les autres consommables doivent être éliminés conformément à toutes les réglementations gouvernementales et environnementales. Éviter de renverser les produits de la réaction.

10.3 ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

L'instrument **ELITE BeGenius** surveille les signaux de fluorescence de la cible et du Internal Control pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) pour générer des courbes de PCR qui sont ensuite interprétées en résultats.

À la fin de l'analyse, l'écran « Results Display » (Affichage des résultats) s'affiche automatiquement. Cet écran présente les résultats et les informations de l'analyse. À partir de cet écran, les résultats peuvent être approuvés et les rapports imprimés ou enregistrés (« Sample Report » [Rapport échantillons] ou « Track Report » [Rapport des positions]). Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

NOTE!

Le **ELITE BeGenius** peut être connecté au « Laboratory Information System » (Système de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet de charger les résultats de la session d'analyse pour les transmettre au centre de données du laboratoire. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

Le **ELITE BeGenius** génère les résultats à l'aide du **Bordetella ELITE MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

1. validation des résultats de Positive Control et Negative Control,
2. validation des résultats des échantillons,
3. rapport des résultats de l'échantillon.

NOTE!

Se reporter au paragraphe correspondant relatif à la procédure avec l'instrument **ELITE InGenius** pour connaître les détails.

11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

11.1 Limite de blanc (LoB)

La limite de blanc (LoB) de l'analyse a été déterminée pour l'instrument **ELITE InGenius** en testant des échantillons d'aspirat nasopharyngé (NPA).

La LoB a été vérifiée en testant un panel de 60 échantillons cliniques de NPA qui étaient négatifs pour la cible IS481 (*B. Pertussis* et *B. holmesii*) et pour IS1001 (*B. parapertussis*). En raison de la sensibilité analytique élevée, la LoB a été définie en appliquant une valeur seuil Ct égale à 40 pour la cible IS481 (*B. pertussis* et *B. holmesii*) et pour la cible BPP (IS1001, *B. parapertussis*) afin d'obtenir les 95 % de résultats négatifs.

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 12 Limite de blanc

<i>B. pertussis/B. holmesii</i> (cible IS481)				
Matrice	N	Positif	Négatif	% de négativité
Aspirats nasopharyngés négatifs	60	3	57	95
<i>B. parapertussis</i> (cible BPP)				
Matrice	N	Positif	Négatif	% de négativité
Aspirats nasopharyngés négatifs	60	1	59	98

Les échantillons qui génèrent un résultat positif à l'aide du Bordetella ELITE MGB Kit en association avec l'instrument ELITE InGenius montraient des valeurs Ct élevées (entre 37 et 40), ce qui signifie qu'ils étaient à une très faible concentration.

La valeur seuil Ct a été confirmée en association avec le ELITE BeGenius.

11.2 Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) de l'analyse a été déterminée pour l'instrument ELITE InGenius en testant des échantillons de NPA dopés avec un matériel de référence de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. holmesii* (DMSZ, Allemagne).

Une analyse de régression des probits a été réalisée sur les résultats, et la LoD a été estimée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 %.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 13 Limite de détection

Cible	LoD (UFC/mL)	Limites de l'intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
<i>B. pertussis</i> (cible IS481)	12	7	58
<i>B. parapertussis</i> (cible IS1001)	11	6	19
<i>B. holmesii</i> (cible IS481)	12	5	34

La valeur de LoD calculée a été vérifiée sur les ELITE BeGenius et ELITE InGenius en testant des échantillons de NPA dopés avec des matériels de référence de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. holmesii* à la concentration revendiquée.

Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour toutes les cibles du Bordetella ELITE MGB Kit à la fois sur le ELITE BeGenius et le ELITE InGenius.

11.3 Inclusivité : efficacité de détection de différentes souches ou isolats

L'inclusivité du test, en tant qu'efficacité de détection de différentes souches ou isolats de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. holmesii* a été évaluée par une analyse *in silico*.

L'analyse a montré une conservation des séquences et une absence de mutations significatives. On s'attend donc à une détection efficace des différentes souches ou isolats.

L'inclusivité a également été vérifiée par l'analyse de matériels de référence de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. holmesii* (Vircell, DSMZ et ATCC).

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 14 Matériel de référence d'ADN génomique

Organisme	Souche	Cible	Pos./rép.	Résultat
<i>B. pertussis</i>	Souche F	IS481	3/3	IS481 détecté
		BP	3/3	BP : typage positif
<i>B. parapertussis</i>	CDC F5101	BPP	3/3	BPP détecté
<i>B. holmesii</i>	Isolat clinique	IS481	3/3	IS481 détecté
		BH	3/3	BH : typage positif
<i>B. pertussis</i>	Tohama I	IS481	3/3	IS481 détecté
		BP	3/3	BP : typage positif
<i>B. parapertussis</i>	12822	BPP	3/3	BPP détecté

Tableau 15 Matériels de référence de culture bactérienne

Organisme	Souche	Cible	Pos./rép.	Résultat
<i>B. pertussis</i>	Isolat clinique	IS481	3/3	IS481 détecté
		BP	2/3	BP : typage positif
<i>B. parapertussis</i>	Isolat clinique	BPP	3/3	BPP détecté
<i>B. holmesii</i>	Isolat clinique	IS481	3/3	IS481 détecté
		BH	3/3	BH : typage positif

Tous les échantillons testés se sont révélés positifs pour l'agent pathogène correct par le Bordetella ELITE MGB Kit.

11.4 Organismes potentiellement interférents : réactivité croisée

La réactivité croisée potentielle d'organismes non souhaitables qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques a été évaluée par une analyse *in silico*.

L'analyse a montré une absence d'homologie significative entre les cibles et la majeure partie des organismes non souhaitables (virus, bactéries, protozoaires et champignons). On ne s'attend donc à aucune réactivité croisée. En revanche, des homologies significatives et une interférence potentielle ont été observées avec certaines souches de *B. hinzii*, *B. bronchialis* et *B. bronchiseptica* pour la détection de IS481, avec certaines souches de *B. petrii* pour la détection de recA et avec *Achromobacter denitrificans* pour la détection de IS1001.

La réactivité croisée avec des organismes potentiellement interférents a également été vérifiée par l'analyse d'un panel d'organismes non souhaitables (ATCC, DSMZ).

Des échantillons d'ADN génomique ont été analysés en triple pour chaque marqueur potentiellement interférent en association avec l'instrument ELITE InGenius en mode « PCR Only » (PCR seulement).

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 16 Organismes potentiellement interférents : réactivité croisée

Échantillon	Positifs/Réplicats					Résultat
	IS481	BP (ptx)	BH (recA)	IS1001	IC	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
<i>Candida albicans</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
<i>Staphylococcus aureus</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
<i>Escherichia coli</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
<i>Haemophilus influenzae</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
<i>Legionella pneumophila</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
<i>Chlamydomonas pneumoniae</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
CMV	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
Entérovirus	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
ADV	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
Virus de la grippe A (FluA)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
Virus de la grippe B (FluB)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
RSV	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée
<i>Bordetella petrii</i> (DSM 12804)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée*
<i>Bordetella petrii</i> (REF504)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée**
<i>Bordetella petrii</i> (REF505)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée*
<i>Bordetella petrii</i> (BORD1836)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée**
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-15-132)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée**
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-19-174)	0/3	0/3	0/3	0/3	3/3	Aucune réactivité croisée**

La majeure partie des organismes potentiellement interférents testés n'a montré aucune réactivité croisée avec les cibles en utilisant le Bordetella ELITE MGB Kit.

D'après l'analyse des séquences, certaines souches de *Bordetella petrii* (*) étaient positives pour la cible BH. Cependant, en raison de la différence de température de fusion (Tm) entre le gène recA de *B. holmesii* et le gène recA d'autres espèces *Bordetella*, le protocole de test génère un résultat « Typing not feasible » (Typage impossible).

En outre, d'autres souches de *B. petrii* (**) possèdent une séquence analogue à IS481 et sont positives pour la cible IS481. Cependant, en raison de la différence de Tm entre la séquence IS481 de *B. pertussis* et de *B. holmesii* et la séquence analogue à IS481 d'autres espèces *Bordetella*, le protocole de test génère un résultat « other related species » (autre espèce apparentée).

11.5 Organismes potentiellement interférents : inhibition

L'inhibition potentielle du test par des organismes non souhaitables qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques a été évaluée par l'analyse d'un panel d'organismes non souhaitables (ATCC et DSMZ) dopés avec des matériels de référence de *B. pertussis* (ATCC) ou *B. parapertussis* (ATCC) ou *B. holmesii* (DSMZ).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 17 Organismes potentiellement interférents : inhibition

Échantillon	Positifs/Réplicats					Résultat
	IS481	BP (ptx)	BH (recA)	IS1001	IC	
<i>Aspergillus fumigatus</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Candida albicans</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Staphylococcus aureus</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Escherichia coli</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Haemophilus influenzae</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Legionella pneumophila</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
CMV	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
Entérovirus	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
ADV	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
Virus de la grippe A (FluA)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
Virus de la grippe B (FluB)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
RSV	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Bordetella petrii</i> (DSM 12804)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Bordetella petrii</i> (REF504)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Bordetella petrii</i> (REF505)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Bordetella petrii</i> (BORD1836)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-15-132)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition
<i>Bordetella petrii</i> (BUR-19-174)	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune inhibition

Tous les organismes potentiellement interférents testés n'ont montré aucune inhibition de l'amplification des cibles à l'aide du Bordetella ELITE MGB Kit.

11.6 Interférence entre les cibles

L'interférence potentielle entre les cibles de l'analyse a été évaluée par un test de co-amplification de matériels de référence de *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. holmesii*.

Pour chaque cible, la plus faible concentration détectable dans tous les réplicats est indiquée dans le tableau suivant.

Tableau 18 Interférence entre les cibles

Cible testée (faible nombre de copies)	Cible interférente à ~10 ⁵ copies/réaction		
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>
IS481 (<i>B. pertussis</i>)	-	10 copies/réaction	-
BPP (<i>B. parapertussis</i>)	10 copies/réaction	-	100 copies/réaction
IS481 (<i>B. holmesii</i>)	-	10 copies/réaction	-

Tableau 19 Interférence entre les cibles : typage

Cible testée (faible nombre de copies)	Cible interférente à ~10 ⁵ copies/réaction		
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>
ptxA (<i>B. pertussis</i>)	-	100 copies/réaction	2 x 10 ³ copies/réaction
recA (<i>B. holmesii</i>)	10 ³ copies/réaction	10 copies/réaction	-

Le Bordetella ELITE MGB Kit ne montre aucune interférence significative entre les cibles.

11.7 Substances potentiellement interférentes : inhibition

L'inhibition potentielle du test par des substances interférentes (endogènes et exogènes) qui pourraient être présentes dans des échantillons cliniques a été évaluée par l'analyse d'un panel de substances à une concentration pertinente dans des échantillons d'aspirat nasopharyngé dopés avec les cibles.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 20

Échantillon	Pos./rép.				Résultat
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>	IC	
Mucine	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune interférence
Sang total	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune interférence
Azithromycine	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune interférence
Béclométasone	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune interférence

Tableau 20 (continued)

Échantillon	Pos./rép.				Résultat
	<i>B. pertussis</i>	<i>B. parapertussis</i>	<i>B. holmesii</i>	IC	
Ébastine	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune interférence
Ambroxol	3/3	3/3	3/3	3/3	Aucune interférence

Le test a montré que les substances testées n'inhibent pas la détection des cibles en utilisant le kit Bordetella ELITE MGB Kit.

11.8 Répétabilité

La répétabilité du test a été évaluée sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons d'aspirat nasopharyngé négatifs ou dopés avec des matériels de référence de *B. pertussis* (DSMZ), *B. parapertussis* (DSMZ) ou *B. holmesii* (DSMZ) à une concentration de 3 x la LoD.

Un exemple des résultats de la répétabilité intra-session (sur un seul jour) est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 21 Répétabilité intra-session avec le ELITE InGenius

Échantillon	N	Cible IS481/BPP			Concordance (%)
		Moyenne	EC	% CV	
Négatif	8	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	36,82	0,53	1,45	100 %
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	8	36,17	0,54	1,48	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,67	0,32	0,91	100 %

Tableau 22 Répétabilité intra-session avec le ELITE BeGenius

Échantillon	N	Cible IS481/BPP			Concordance (%)
		Moyenne	EC	% CV	
Négatif	8	-	-	-	100 %
<i>B. pertussis</i> (IS481)	8	36,51	0,40	1,11	100 %
<i>B. parapertussis</i> (BPP)	8	36,20	0,36	0,98	100 %
<i>B. holmesii</i> (IS481)	8	35,54	0,37	1,05	100 %

Un exemple des résultats de la répétabilité inter-sessions (sur deux jours) est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 23 Répétabilité inter-sessions avec le ELITE InGenius (Jour 1 + Jour 2)

Échantillon	N	Cible IS481/BPP			Concordance (%)
		Moyenne	EC	% CV	
Négatif	16	-	-	-	100 %
B. pertussis (IS481)	16	36,69	0,52	1,42	100 %
B. parapertussis (BPP)	16	36,25	0,50	1,39	100 %
B. holmesii (IS481)	16	35,47	0,33	0,92	100 %

Tableau 24 Répétabilité inter-sessions avec le ELITE BeGenius (Jour 1 + Jour 2)

Échantillon	N	Cible IS481/BPP			Concordance (%)
		Moyenne	EC	% CV	
Négatif	16	-	-	-	100 %
B. pertussis (IS481)	16	36,59	0,38	1,04	100 %
B. parapertussis (BPP)	16	36,22	0,44	1,21	100 %
B. holmesii (IS481)	16	35,38	0,33	0,92	100 %

Dans le test de répétabilité, le Bordetella ELITE MGB Kit a détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale de la valeur Ct de la cible (en tant que % CV) inférieure à 5 %.

11.9 Reproductibilité

La reproductibilité du test a été évaluée sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons d'aspirat nasopharyngé négatifs ou dopés avec un matériel de référence de *B. pertussis* (DSMZ), *B. parapertussis* (DSMZ) et *B. holmesii* (DSMZ) à une concentration de 3 x la LoD.

Un exemple de la reproductibilité inter-lots (sur deux lots) est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 25 Reproductibilité inter-lots avec le ELITE InGenius

Échantillon	N	Cible IS481/BPP			Concordance (%)
		Moyenne	EC	% CV	
Négatif	8	-	-	-	100 %
B. pertussis (IS481)	8	36,87	0,32	0,88	100 %
B. parapertussis (BPP)	8	35,97	0,53	1,47	100 %
B. holmesii (IS481)	8	35,46	0,61	1,72	100 %

Tableau 26 Reproductibilité inter-lots avec le ELITE BeGenius

Échantillon	N	Cible IS481/BPP			Concordance (%)
		Moyenne	EC	% CV	
Négatif	8	-	-	-	100 %
B. pertussis (IS481)	8	37,20	0,49	1,31	100 %

Tableau 26 Reproductibilité inter-lots avec le ELITE BeGenius (continued)

Échantillon		Cible IS481/BPP			Concordance (%)
	N	Moyenne	EC	% CV	
B. parapertussis (BPP)	8	36,19	0,53	1,45	100 %
B. holmesii (IS481)	8	35,59	0,39	1,08	100 %

Un exemple de la reproductibilité inter-instruments (sur deux instruments) est présenté dans les tableaux ci-dessous.

Tableau 27 Reproductibilité inter-instruments avec le ELITE InGenius

Échantillon		Cible IS481/BPP			Concordance (%)
	N	Moyenne	EC	% CV	
Négatif	8	-	-	-	100 %
B. pertussis (IS481)	8	36,73	0,28	0,76	100 %
B. parapertussis (BPP)	8	35,80	0,53	1,47	100 %
B. holmesii (IS481)	8	35,15	0,39	1,12	100 %

Tableau 28 Reproductibilité inter-instruments avec le ELITE BeGenius

Échantillon		Cible IS481/BPP			Concordance (%)
	N	Moyenne	EC	% CV	
Négatif	8	-	-	-	100 %
B. pertussis (IS481)	8	37,12	0,45	1,22	100 %
B. parapertussis (BPP)	8	36,10	0,62	1,71	100 %
B. holmesii (IS481)	8	35,40	0,45	1,26	100 %

Dans le test de reproductibilité, le produit Bordetella ELITE MGB Kit a détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale de la valeur Ct des cibles (en tant que % CV) inférieure à 5 %.

11.10 Spécificité diagnostique (pourcentage de concordance négative) : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en association avec le ELITE InGenius en analysant des échantillons cliniques d'aspirat nasopharyngé certifiés négatifs pour *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. holmesii* par une méthode de culture et un test commercial de DIV portant le marquage CE réalisés par un laboratoire externe.

Étant donné que les performances analytiques du ELITE BeGenius sont équivalentes à celles du ELITE InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la spécificité diagnostique du test obtenue en association avec le ELITE InGenius s'applique également au ELITE BeGenius.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 29 Spécificité diagnostique

Aspirat nasopharyngé négatif	N	Positif	Négatif	Spécificité diagnostique (%)
<i>B. pertussis</i> / <i>B. holmesii</i> (IS481)	59	0	59	100 %
<i>B. parapertussis</i>	83	1	82	98,8 %

La valeur seuil Ct de l'IC est définie à 30.

11.11 Sensibilité diagnostique (pourcentage de concordance positive) : confirmation des échantillons positifs

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en association avec le ELITE InGenius en analysant des échantillons cliniques d'aspirat nasopharyngé certifiés positifs pour chaque cible ou dopés avec un matériel de référence (DSMZ et BCCM).

Les échantillons positifs et les échantillons négatifs utilisés pour le dopage ont été certifiés par une méthode de culture et/ou des tests de DIV commerciaux portant le marquage CE. Des échantillons artificiels pour *B. parapertussis* et *B. holmesii* ont été dopés à différentes concentrations afin de couvrir une vaste plage de valeurs Ct.

Étant donné que les performances analytiques du ELITE BeGenius sont équivalentes à celles du ELITE InGenius, les performances diagnostiques du test effectué sur les deux instruments sont également considérées comme équivalentes. En conséquence, la spécificité diagnostique du test obtenue en association avec le ELITE InGenius s'applique également au ELITE BeGenius.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 30 Sensibilité diagnostique

Aspirat nasopharyngé positif/dopé	N	Positif	Négatif	Spécificité diagnostique (%)
Positif pour <i>B. pertussis</i>	58	57	1	98,3 %
Dopé avec <i>B. parapertussis</i>	58	58	0	100 %
Dopé avec <i>B. holmesii</i>	54	54	0	100 %
Positif pour <i>B. holmesii</i>	1	1	0	

NOTE!

Les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et l'instrument sont présentés dans la Fiche technique du produit « Bordetella ELITE MGB® Kit », FTP 140ING.

12 BIBLIOGRAPHIE

U. Reischl et al. (2001) J Clin Microbiol. 39: 1963–1966.

N. K. Fry et al. (2009) J Med Microbiol. 58: 1023–9.

A. Van der Zee (1993) J Bacteriol. 175: 141–7.

J. L. Guthrie et al. (2010) J Clin Microbiol. 48: 1435–7

E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30

<https://www.mayocliniclabs.com/> - BPRPV

<https://www.questdiagnostics.com/healthcare-professionals/test-directory>

Laboratory Manual for the diagnosis of Whooping Cough caused by Bordetella pertussis/

Bordetella parapertussis Update 2014 – ISBN WHO_IVB_14.03_eng

13 LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser ce produit uniquement avec les échantillons cliniques suivants : aspirat nasopharyngé.

Il n'existe actuellement aucune donnée disponible concernant les performances du produit avec d'autres échantillons cliniques.

Les résultats obtenus avec ce produit dépendent de l'identification, de la collecte, du transport, de la conservation et du traitement appropriés 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 le produit.

La méthode de PCR en temps réel utilisée dans ce produit présente une sensibilité analytique élevée qui la rend sensible à la contamination croisée par les échantillons cliniques positifs, les contrôles positifs et les produits de PCR. Une contamination croisée peut générer des résultats faux positifs. Le format du produit est conçu pour limiter la contamination croisée. Toutefois, une contamination croisée ne peut être évitée 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 un équipement de protection individuelle et de disposer de zones appropriées 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 de laboratoire et d'utiliser des instruments dédiés au paramétrage des sessions de travail afin d'éviter tout résultat faux positif.

Afin d'éviter des résultats incorrects, ce produit doit être manipulé par du personnel professionnel, qualifié et formé aux techniques de biologie moléculaire telles que l'extraction, la PCR et la détection des acides nucléiques.

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 indique que l'ADN cible n'est pas détecté dans l'ADN extrait de l'échantillon ; toutefois, il n'est pas possible d'exclure le fait que de l'ADN cible soit présent à un titre inférieur à la limite de détection du produit (se reporter à la section [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 19](#)). Dans ce cas, le résultat pourrait être un faux négatif.

En cas de co-infections, la sensibilité d'une cible peut être affectée par l'amplification d'une seconde cible (se reporter à la section [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 19](#)).

Dans certains cas, *B. bronchiseptica*, *B. hinzii* et *B. bronchialis* peuvent comporter la séquence répétée IS481 et donc générer des résultats positifs pour cette cible.

Dans certains cas, *B. bronchiseptica* et *Achromobacter denitrificans* peuvent comporter la séquence répétée IS1001 et donc générer des résultats positifs pour la cible BPP.

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.

D'éventuels polymorphismes, insertions ou délétions au sein de la région de l'ADN ciblé 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 association avec l'ensemble des observations cliniques et des résultats de laboratoire pertinents.

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, il existe un risque résiduel d'obtention de résultats non valides, ou de résultats erronés 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. Néanmoins, ce risque résiduel associé à l'utilisation prévue du produit a été évalué comme acceptable au regard des avantages potentiels pour le patient.

14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Tableau 31

Réaction Positive Control non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et du Contrôle positif. Vérifier les volumes du PCR Mix et du Positive Control.
Dégradation du PCR Mix.	Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 7 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de stockage] ou dans la Cooler Unit [unité de refroidissement]). Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 3 sessions d'analyse consécutives (7 heures dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de Stockage] ou dans la Cooler Unit [unité de refroidissement]). Ne pas laisser le PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.
Dégradation du Positive Control.	Ne pas utiliser le Positive Control pendant plus de 4 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans la « Extraction Area » [Zone d'extraction] ou dans la Cooler Unit [unité de refroidissement]). Utiliser une nouvelle aliquote du Positive Control.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 32

Réaction du Contrôle négatif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et du Contrôle négatif. Vérifier les volumes du PCR Mix et du Negative Control.
Contamination du Negative Control.	Ne pas utiliser le Negative Control pour plus d'une (1) session d'analyse. Utiliser une nouvelle aliquote d'eau de qualité biologie moléculaire.
Contamination du PCR Mix.	Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.
Contamination de la zone d'extraction, des racks, du « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) ou de la Cooler Unit.	Nettoyer les surfaces avec des détergents aqueux, laver les blouses de laboratoire, remplacer les tubes et les cônes utilisés.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 33

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix, de l'Internal Control et de l'échantillon. Vérifier les volumes du PCR Mix, de l'Internal Control et de l'échantillon.
Dégradation du PCR Mix.	Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 7 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans la « Extraction Area » [Zone d'extraction] ou dans la Cooler Unit [unité de refroidissement]). Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 3 sessions d'analyse consécutives (7 heures dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de Stockage] ou dans la Cooler Unit [unité de refroidissement]). Ne pas laisser le PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Préparer une nouvelle aliquote du PCR Mix.
Dégradation de la matrice du Contrôle interne.	Utiliser une nouvelle aliquote du Contrôle Interne
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification avec une dilution à 1:2 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). Répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 34

Erreur de calcul de la valeur Ct	
Causes possibles	Solutions
Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon ou échantillon montrant une anomalie du signal de fluorescence.	Si une amplification significative est observée dans la courbe de PCR, sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat comme positif. Si aucune amplification n'est observée dans la courbe de PCR, sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat comme négatif ou le laisser non valide. Si une valeur Ct est requise : - répéter l'amplification de l'échantillon élué avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). - répéter l'extraction de l'échantillon avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

Tableau 35

Taux anormalement élevé de résultats positifs dans la même session d'analyse (réactions avec des valeurs Ct tardives similaires)	
Causes possibles	Solutions
Contamination inter-échantillons lors des étapes pré-analytiques.	Nettoyer la micropipette à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 3 % (eau de Javel) fraîchement préparée ou d'un agent de nettoyage de l'ADN/ARN après le pipetage de chaque échantillon. Ne pas utiliser de pipettes Pasteur. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou être utilisées avec des cônes dotés d'un filtre pour les aérosols. Introduire les échantillons dans les dernières positions des instruments, comme indiqué par la GUI. Suivre la séquence de chargement indiquée par le logiciel.
Contamination environnementale du laboratoire.	Nettoyer toutes les surfaces en contact avec l'opérateur et les échantillons (y compris les pipettes) à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel) à 3 % fraîchement préparée ou d'un agent de nettoyage de l'ADN/ARN. Effectuer un cycle de décontamination U.V. Utiliser un nouveau tube de PCR Mix et/ou de CPE.

15 LÉGENDE DES SYMBOLES



Numéro de référence.



Limite supérieure de température.



Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.



Conforme aux exigences du Règlement IVDR 2017/746/CE relatif aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*. Certification délivrée par TÜV SÜD Product Service GmbH, Allemagne.



Identifiant unique de dispositif



Contenu suffisant pour << N >> tests.



Consulter le mode d'emploi.



Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

16 AVIS AUX UTILISATEURS

Tout incident grave lié au dispositif doit être signalé au fabricant ainsi qu'à l'autorité compétente de l'état membre dans lequel réside l'utilisateur et/ou le patient. Pour informer le fabricant de ce dispositif, ELITechGroup S.p.A., utiliser l'adresse e-mail suivante : egspa.vigilance@elitechgroup.com.

17 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

Ce produit contient des réactifs fabriqués par Thermo Fisher Scientific et commercialisés selon des accords de licence entre ELITechGroup S.p.A. et ses filiales et Thermo Fisher Scientific. 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, Thermo Fisher Scientific. E-mail : outlicensing@thermofisher.com.

Les réactifs de détection ELITE MGB® sont couverts par un ou plusieurs des brevets américains numéros 7319022, 7348146, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8163910, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 et par les brevets EP numéros 2689031, 2714939, 2736916, 2997161, ainsi que par des demandes de brevet actuellement en instance.

Les technologies ELITE InGenius® and ELITE BeGenius® sont couvertes par des brevets et des demandes en instance.

Cette licence limitée permet à la personne ou à l'entité à laquelle ce produit a été fourni d'utiliser le produit, ainsi que les données générées par son utilisation, uniquement à des fins de diagnostic humain. Ni ELITechGroup S.p.A. ni ses concédants n'accordent d'autres licences, explicites ou implicites, à d'autres fins.

Appendix A Bordetella ELITE MGB Kit utilisé en association avec les plateformes de la série Genius



ATTENTION

Ce document est une version simplifiée du mode d'emploi officiel. Veuillez vous reporter au document complet avant toute utilisation : www.elitechgroup.com

Application

Le produit **Bordetella ELITE MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test qualitatif de PCR en temps réel multiplexe des acides nucléiques pour la détection et l'identification de l'ADN génomique, extrait d'échantillons cliniques, de ***Bordetella pertussis* (BP)**, ***Bordetella parapertussis* (BPP)** et ***Bordetella holmesii* (BH)**.

Le test est validé en association avec les instruments **ELITE InGenius®** et **ELITE BeGenius®**, des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, de PCR en temps réel et d'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons humains d'aspirat nasopharyngé.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic des infections à *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* et *Bordetella holmesii* chez les patients suspectés de présenter une infection par Bordetella.

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

Séquence amplifiée

Cible pour une application qualitative	Gène	Fluorophore
B. pertussis et B. holmesii	IS481	FAM (Canal 1)
B. pertussis	promoteur du gène ptxA	AP639 (Canal 5)
B. holmesii	recA	AP690 (Canal 6)
B. parapertussis	IS1001	AP593 (Canal 4)
Contrôle Interne	IC2	AP525 (Canal 2)

Matrice validée

- Aspirat nasopharyngé

Contenu du kit et produits associés

Bordetella ELITE MGB Kit (RTS140ING)	Bordetella - ELITE Positive Control (CTR140ING)
 X 8	 X 3
BORD PCR Mix 8 tubes de 280 µL 12 réactions par tube 96 réactions par kit 7 cycles de congélation/décongélation par tube	BORD Positive Control 3 tubes de 160 µL 4 réactions par tube 12 réactions par kit 4 cycles de congélation/décongélation

Bordetella ELITE MGB Kit (RTS140ING)		Bordetella - ELITE Positive Control (CTR140ING)	
Durée de conservation maximale :	24 mois	Durée de conservation maximale	24 mois
Température de stockage	≤ -20 °C	Température de stockage	≤ -20 °C

Autres produits requis non inclus dans le kit

- Instrument ELITE InGenius : INT030 - Instrument ELITE BeGenius : INT040 - ELITE InGenius SP 200 : INT032SP200	- CPE – Internal Control : CTRCPE - Consommables pour ELITE InGenius et ELITE BeGenius (voir le mode d'emploi des instruments ELITE InGenius et ELITE BeGenius)
---	--

Protocole ELITE InGenius et ELITE BeGenius

- Volume d'échantillon - Volume de CPE - Volume d'élution total	200 µL 10 µL 100 µL	- Volume initial d'éluat de PCR - Volume de PCR Mix - Fréquence des contrôles	20 µL 20 µL 15 jours
---	---------------------------	---	----------------------------

Performances de ELITE InGenius et ELITE BeGenius

Cible	Limite de détection	Sensibilité	Spécificité
B. pertussis	12 UFC/mL	98,3 % 57/58*	100 % 59/59*
B. holmesii	12 UFC/mL	100 % 55/55*	100 % 59/59*
B. parapertussis	11 UFC/mL	100 % 58/58*	98,8 % 82/83*

*échantillons confirmés/échantillons testés

Préparation de l'échantillon

Ce produit est destiné à être utilisé sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** avec les échantillons cliniques suivants, identifiés selon les directives de laboratoire, et prélevés, transportés et conservés dans les conditions suivantes :

Type d'échantillon	Conditions de transport/conservation			
	+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Aspirat nasopharyngé	≤ 2 jours	≤ 7 jours	≤ 1 mois	> 1 mois

Procédures ELITE InGenius

L'interface graphique (GUI) du logiciel ELITE InGenius guide l'utilisateur, étape par étape, pour paramétrer l'analyse. Toutes les étapes, à savoir l'extraction, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats, sont effectuées automatiquement. Deux modes de fonctionnement sont disponibles : analyse complète « Extract + PCR » (Extraction + PCR) ou « PCR Only » (PCR seulement).

Avant l'analyse

1. Mettre le ELITE InGenius en marche. Se connecter avec le nom d'utilisateur et le mot de passe. Sélectionner le mode « CLOSED » (Fermé).	2. Vérifier les contrôles : Positive Control et le Negative Control dans le menu « Controls » (Contrôles). Remarque : les deux contrôles doivent avoir été analysés, approuvés et ne pas être expirés.	3. Décongeler les tubes de PCR Mix et de CTRCPE . Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s.
---	--	---

Procédure 1 - Analyse complète : Extract + PCR (Extraction + PCR) (par ex. échantillons)

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile	2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », élution : « 100 µL »	3. Scanner les codes-barres des échantillons à l'aide du lecteur de codes-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : BORD ELITE_NPA_200_100	5. Sélectionner la méthode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) et la position de l'échantillon : Extraction Tube (Tube d'extraction)	6. Charger le PCR Mix et le Contrôle interne dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7. Charger : la PCR Cassette, la cartouche d'extraction, le tube d'élution, la cassette à embouts, les racks de tubes d'extraction	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

NOTE!

Si le mode « Extract Only » (Extraction seulement) est nécessaire, se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour prendre connaissance de la procédure.

Procédure 2 : PCR Only (PCR seulement) (par ex. éluats, contrôles)

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile	2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », élution : « 100 µL »	3. Scanner les codes-barres des échantillons à l'aide du lecteur de codes-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : BORD ELITE_NPA_200_100 ou BORD ELITE_PC ou BORD ELITE_NC	5. Sélectionner la méthode « PCR Only » (PCR seulement) et la position de l'échantillon « Elution Tube » (Tube d'élution)	6. Charger le PCR Mix dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7. Charger : le rack de PCR Cassette (Cassette de PCR) et le rack de tubes d'élution avec l'acide nucléique extrait	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

Procédures ELITE BeGenius

L'interface graphique (GUI) du logiciel ELITE BeGenius guide l'utilisateur, étape par étape, pour paramétrer l'analyse. Toutes les étapes, à savoir l'extraction, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats, sont effectuées automatiquement. Deux modes de fonctionnement sont disponibles : analyse complète « Extract + PCR » (Extraction + PCR) ou « PCR Only » (PCR seulement).

Avant l'analyse

1. Mettre le ELITE InGenius en marche. Se connecter avec le nom d'utilisateur et le mot de passe. Sélectionner le mode « CLOSED » (Fermé).	2. Vérifier les contrôles : Positive Control et le Negative Control dans le menu « Controls » (Contrôles). Remarque : les deux contrôles doivent avoir été analysés, approuvés et ne pas être expirés.	3. Décongeler les tubes de PCR Mix et de CTRCPE . Agiter délicatement au vortex. Centrifuger pendant 5 s.
---	--	---

Procédure 1 - Analyse complète : Extract + PCR (Extraction + PCR) (par ex. échantillons)

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile puis cliquer sur le mode d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR)	2. Insérer le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons) avec les échantillons à code-barres dans la Cooler Unit. La lecture des code-barres est déjà active	3. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », Éluat : « 100 µL »
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : BORD ELITE_Be_NPA_200_100 Remarque : Si une deuxième extraction est exécutée, répéter les étapes 2 à 4	5. Imprimer les étiquettes à code-barres pour les apposer sur les tubes d'élution vides. Charger les tubes dans le « Elution Rack » (Rack d'élution) et insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	6. Charger le PCR Mix et le Contrôle interne dans le Reagent/Elution Rack (Rack de réactifs/d'élution), puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.
7. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) et le « Extraction Basket » (Panier d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITE InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

NOTE!

Si le mode « Extract Only » (Extraction seulement) est nécessaire, se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour prendre connaissance de la procédure.

Procédure 2 : PCR Only (PCR seulement) (par ex. éluats, contrôles)

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile, puis cliquer sur le mode d'analyse « PCR Only » (PCR seulement)	2. Charger les tubes à code-barres contenant les acides nucléiques extraits ou les contrôles dans le « Elution Rack » (Rack d'élution), puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	3. Pour les contrôles : pour chaque « Position », entrer le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), l'« Exp.Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions). Pour les éluats : pour chaque « Position », entrer le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), l'« Extraction kit » (Kit d'extraction) et l'« Extracted eluate vol. » (volume d'éluat extrait).
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : BORD ELITE_Be_NPA_200_100 ou BORD ELITE_Be_PC ou BORD ELITE_Be_NC	5. Charger le PCR Mix dans le Reagent/Elution Rack (Rack de réactifs/d'élution) et insérer ce dernier dans la Cooler Unit	6. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR)
7. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	8. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats	



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