

Instructions for use

CRE ELITe MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN



REF RTS200ING

UDI 08033891486



HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Rév.	Avis de modification	Date (jj/mm/aa)
05	Extension de l'utilisation du produit en association avec l'instrument « ELITe BeGenius® » (RÉF INT040). Mise à jour du paragraphe « Autres produits requis ». Mise à jour du paragraphe « Note pour l'acquéreur : licence limitée » Mise à jour du paragraphe « Symboles » avec le symbole « Consulter le mode d'emploi » Nouveaux graphiques et contenu du mode d'emploi.	24/11/25
04	Changement de la sonde utilisée pour la détection des gènes « OXA-48-like »	14/11/18
03	Corrections formelles à la section « Échantillons et contrôles »	30/07/18
02	Extension de l'utilisation du produit avec la matrice d'hémoculture, en association avec l'instrument ELITe InGenius.	22/12/17
00-01	Développement de nouveaux produits et modifications ultérieures	-

NOTE!

La révision du présent mode d'emploi est également compatible avec les versions précédentes du kit

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 AVEC LE 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 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	32
Appendix A QUICK START GUIDE.....	34

1 APPLICATION

Le produit **CRE ELiTe MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test qualitatif de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la détection de l'ADN des gènes de résistance aux carbapénèmes (KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like) des *Enterobacteriaceae*.

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'écouvillons rectaux et d'hémoculture.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic et au dépistage des infections par des *Enterobacteriaceae* positives pour des gènes de résistance aux carbapénèmes, en association avec les données cliniques et d'autres résultats d'analyse de laboratoire du patient.

Le produit est également compatible avec la caractérisation des *Enterobacteriaceae* positives pour des gènes de résistance aux carbapénèmes dans des échantillons d'ADN extraits d'isolat de culture.

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

*Pour obtenir la liste complète des variants des gènes détectés par ce produit, se reporter à la section [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 19](#)

2 PRINCIPE DU TEST

Le test est une PCR qualitative en temps réel qui détecte l'ADN des gènes de résistance aux carbapénèmes **KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like** d'*Enterobacteriaceae*, isolé à partir d'échantillons et amplifié à l'aide du réactif du test, le CRE PCR Mix, qui contient des amorces et des sondes dotées de la technologie ELiTe MGB Kit.

Les sondes ELiTe MGB Kit 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 Kit 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.

NOTE!

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 **CRE ELiTe MGB Kit** fournit le réactif du test, le **CRE PCR Mix**, un PCR Mix optimisé et stabilisé qui contient les amorces et les sondes spécifiques pour :

- la famille de gènes **KPC**, détectés dans le Canal **KPC** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée par le colorant FAM,
- la famille de gènes **NDM**, détectés dans le Canal **NDM VIM IMP** ; les sondes sont stabilisées par le groupe MGB, désactivées par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquées par le colorant AquaPhluor 593 (AP593),
- la famille de gènes **VIM**, détectés dans le Canal **NDM VIM IMP** ; les sondes sont stabilisées par le groupe MGB, désactivées par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquées par le colorant AquaPhluor 593 (AP593),
- la famille de gènes **IMP**, détectés dans le Canal **NDM VIM IMP** ; les sondes sont stabilisées par le groupe MGB, désactivées par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquées par le colorant AquaPhluor 593 (AP593),
- la famille de gènes **OXA-48-like**, détectés dans le Canal **OXA** ; les sondes sont stabilisées par le groupe MGB, désactivées par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquées par le colorant AquaPhluor 639 (AP639),

le Internal Control (IC), spécifique pour la séquence artificielle IC2, détecté dans le Canal **IC** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor 525 (AP525).

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

NOTE!

Les trois gènes de la famille des métallo-bêta-lactamases, NDM, VIM et IMP, sont détectés par différentes sondes avec le même colorant fluorescent, puis sont détectés par le même Canal NDM VIM IMP et ne peuvent pas être différenciés.

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

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

4 MATÉRIEL FOURNI

Tableau 1

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
CRE PCR Mix réf. RTS200ING	Mélange de réactifs pour la PCR en temps réel 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).
- Tube de 50 mL à capuchon vissant (Sarstedt, Allemagne, réf. 62.547.254).
- Tube de 15 mL à capuchon vissant (Sarstedt, Allemagne, réf. 62.554.502).
- Tube de 2,0 mL à collerette et à capuchon vissant (Sarstedt Réf. 72.694.005).
- Eau de qualité biologie moléculaire.

6 AUTRES PRODUITS REQUIS

Les réactifs pour l'extraction de l'ADN des échantillons, le Internal Control d'extraction et d'inhibition, les contrôles positif et négatif d'amplification, les étalons d'ADN 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 logiciel	Produits et réactifs
ELiTe InGenius (ELiTechGroup S.p.A., EG SpA réf. INT030) ELiTe InGenius Software version 1.3.0.19 (ou versions ultérieures) CRE ELiTe_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Positive Control CRE ELiTe_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Negative Control CRE ELiTe_RcS_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons d'écouvillons rectaux CRE ELiTe_BC_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons d'hémoculture	CRE — ELiTe Positive Control (EG SpA, réf. CTR200ING) ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, réf. INT032SP200) Consommables pour les ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius (se reporter au mode d'emploi des instruments ELiTe InGenius et ELiTe BeGenius) CPE – Internal Control (EG SpA, réf. CTRCPE) eNAT™ kit (Copan, réf. 608CS01R), FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., réf. 470CE),
ELiTe BeGenius (EG SpA réf. INT040) ELiTe BeGenius Software version 2.3.0. (ou versions ultérieures) CRE ELiTe_Be_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Positive Control CRE ELiTe_Be_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Negative Control CRE ELiTe_Be_RcS_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons d'écouvillons rectaux CRE ELiTe_Be_BC_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons d'hémoculture	

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.

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

Les réactifs doivent être manipulés sous une hotte à flux laminaire. Les pipettes utilisées pour la manipulation des réactifs doivent être utilisées exclusivement à cette fin. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou 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)
CRE PCR Mix	-20°C ou température plus basse (à l'abri de la lumière)	un mois	jusqu'à quatre	jusqu'à quatre sessions d'analyse distinctes* de trois heures chacune

*avec congélation intermédiaire

8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

8.1 Échantillons et protocoles de test

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 laboratoires, 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
hémoculture	—	≤ 24 heures	—	—	—
écouvillon rectal	prélevé avec le eNAT™ kit	—	≤ 1 mois	≤ 6 mois	Longues périodes
écouvillon rectal	prélevé avec le FecalSwab™ kit	—	≤ 3 jours	—	—

Avant l'analyse, diluer l'échantillon d'hémoculture à 1/1000 dans de l'eau ultrapure (au moins 10 µL d'échantillon dans 10 mL d'eau ultrapure), agiter au vortex et transférer 0,2 mL des échantillons dilués dans un tube d'extraction (pour l'instrument ELiTe InGenius) ou dans un tube Sarstedt de 2 mL (pour l'instrument ELiTe BeGenius).

Avant l'analyse d'un écouvillon rectal prélevé avec le kit FecalSwab™, 0,5 mL d'échantillon dans le milieu FecalSwab™ doit être transféré dans un tube eNAT™ neuf avec 2,0 mL de milieu, et agité au vortex. Après l'ajout de 0,5 mL d'échantillon dans le milieu FecalSwab™, le tube eNAT™ peut être chargé directement dans le système en tant que tube primaire. Les échantillons dilués dans un milieu eNAT™ peuvent être conservés dans les mêmes conditions que celles indiquées dans le tableau ci-dessus.

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.

Ce produit est compatible avec des isolats de culture et le ELiTe InGenius : avant l'analyse à l'aide de ce produit, diluer l'échantillon dans un tube eNAT™ neuf avec 2,0 mL de milieu, en prélevant une aliquote de colonie isolée à l'aide d'une anse, agiter au vortex et transférer 0,2 mL d'échantillon dilué dans un tube d'extraction. Lorsque l'extraction des acides nucléiques d'isolats de culture est réalisée avec le ELiTe InGenius, utiliser le protocole d'extraction **CRE ELiTe_BC_200_100**.

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 Kit et le **ELiTe InGenius** ou **ELiTe BeGenius** avec les matrices indiquées.

Tableau 5 Protocoles de test pour le CRE ELiTe MGB Kit

Protocoles de test pour le CRE ELiTe MGB Kit				
Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
écouvillon rectal	ELiTe InGenius	CRE ELiTe_RcS_200_100	Positif/ Négatif	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELiTe BeGenius	CRE ELiTe_Be_RcS_200_100	Positif/ Négatif	
hémoculture	ELiTe InGenius	CRE ELiTe_BC_200_100	Positif/ Négatif	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELiTe BeGenius	CRE ELiTe_Be_BC_200_100	Positif/ Négatif	

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 plus d'informations concernant les substances interférentes.

La présence d'une grande quantité d'ADN génomique humain dans l'ADN extrait de l'échantillon peut inhiber la réaction d'amplification.

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 **CRE - ELITE Positive Control** (non inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **CRE ELITE_PC** ou **CRE 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) **CRE ELITE_NC** ou **CRE 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 AVEC LE ELITE InGenius

La procédure d'utilisation du **CRE 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 Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
ÉTAPE 3	Examen et approbation des résultats	1) Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif
		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 **CRE ELiTe MGB Kit** peut être utilisé sur le **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. Si requis, transférer 200 µL d'échantillon dans un tube d'extraction préalablement étiqueté.	Décongeler les tubes d'élution 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'élution) 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'élution 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'élution 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'élution 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
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) ou « Primary tube » (Tube primaire) 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'élution [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'élution [ligne du bas]).
9	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

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])
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 et le nombre de réactions pour le CPE et 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'élution 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'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 4 sessions distinctes de 3 heures chacune ; 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 **CRE 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.

9.4 Validation des résultats d'amplification de Positive Control et Negative Control,

Le **ELITE InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour les cibles 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 utilisées pour vérifier le système (lots de réactifs et instrument).

Les résultats du Positive Control et du Negative Control 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 Positive Control et du Negative Control expirent **au bout de 15 jours**.

Les résultats de l'amplification du Positive Control et du Negative Control sont utilisés par le logiciel **ELITE InGenius** 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 le Positive Control ou Negative Control ne répond pas aux critères d'acceptation, le message « Failed » (Échec) s'affiche dans l'écran « Calibration » (calibrage). Dans ce cas, les résultats ne peuvent pas être approuvés et les analyses du Positive Control ou Negative Control doivent être répétées.

NOTE!

Si le résultat du Positive Control or Negative Control 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.

9.5 Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELITE InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour la cible (canaux **KPC**, **NDM**, **VIM**, **IMP**, **OXA**) et le Contrôle interne (Internal Control) (canal **IC**) avec les paramètres des protocoles de test (Assay Protocols) **CRE ELITE_RcS_200_100** et **CRE ELITE_BC_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
CRE Positive Control	APPROUVÉ
2) Negative Control	Statut
CRE - Negative Control	APPROUVÉ

Les résultats des échantillons sont automatiquement interprétés par le **ELITE InGenius software** en utilisant les paramètres du Assay Protocol (Protocole de test). 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 de l'agent pathogène sont détectés ou non détectés.

Tableau 9

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
KPC:DNA detected (KPC:ADN détecté)	L'ADN du gène KPC a été détecté dans l'échantillon.
NDM VIM IMP:DNA detected (NDM VIM IMP:ADN détecté)	L'ADN du gène NDM, VIM ou IMP a été détecté dans l'échantillon.
OXA:DNA detected (OXA:ADN détecté)	L'ADN du gène OXA a été détecté dans l'échantillon.
KPC:DNA Not detected or below the LoD (KPC:ADN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ADN du gène KPC n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est valide et négatif pour ce gène ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
NDM VIM IMP:DNA Not detected or below the LoD (NDM VIM IMP:ADN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ADN des gènes NDM, VIM et IMP n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est valide et négatif pour ces gènes ou leur concentration est inférieure à la limite de détection du test.
OXA:DNA Not detected or below the LoD (OXA:ADN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ADN du gène OXA n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est valide et négatif pour ce gène ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Invalid-Retest Sample (Non valide-Tester à nouveau l'échantillon)	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Internal Control (extraction incorrecte ou contamination par des 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 Internal Control n'a pas été efficacement détecté, ce qui peut être dû à des problèmes lors des étapes de prélèvement de l'échantillon, 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 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 : « xxx:DNA Not detected or below the LoD » (xxx:ADN non détecté ou inférieur à LoD) sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter l'ADN cible. Dans ce cas, il n'est pas possible d'exclure le fait que de l'ADN cible soit présent à une concentration inférieure à la limite de détection du test (se reporter à la section « [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 19](#) »).

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).

9.6 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 **CRE 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 **CRE ELiTe MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELiTe BeGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

- A. une analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- B. une analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement]),
- C. 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. Si requis, transférer 200 µL d'échantillon dans un tube Sarstedt de 2 mL préalablement étiqueté.	Si nécessaire, décongeler les tubes d'élution 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'élution) 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.

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])
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'élution).	Charger les tubes de Positive Control et Negative Control dans le « Elution Rack » (Portoir d'élution).
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

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])
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).
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 4 sessions distinctes de 3 heures chacune ; 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 **CRE 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

Étant donné que les performances analytiques du **ELiTe BeGenius** sont équivalentes à celles du **ELiTe InGenius**, les résultats indiqués dans les sections suivantes s'appliquent également au **ELiTe BeGenius**.

11.1 Sensibilité analytique : limite de détection

La sensibilité analytique, en tant que limite de détection (LoD) du test, a été déterminée sur le **ELITE InGenius** en testant 6 souches de CRE, une de chacun des types de gène suivants : KPC, IMP, VIM, NDM, OXA-48 et OXA-181, en association avec des échantillons d'écouvillons rectaux.

La LoD de chaque souche de CRE a été estimée comme la concentration correspondant à une probabilité de résultat positif de 95 % par une analyse de régression des probits des données.

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 12 Limite de détection (UFC/mL) pour des échantillons d'écouvillons rectaux avec le ELITE InGenius

Cible	Isolat bactérien	LoD (UFC/mL)	Intervalle de confiance à 95 % (UFC/mL)	
			Limite inférieure	Limite supérieure
KPC	<i>C. freundii</i> , UCLA 14-13-A2	99	69	217
NDM	<i>E. coli</i> , ATCC BAA-2469	144	110	228
VIM	<i>K. pneumoniae</i> , NCTC 13439	399	338	579
IMP	<i>E. coli</i> , NCTC 13476	273	234	351
OXA-48	<i>E. coli</i> , ATCC BAA-2523	300	241	456
OXA-181	<i>K. pneumoniae</i> , JMI 18	179	139	287

La LoD calculée a été vérifiée sur l'instrument ELITE InGenius en testant des échantillons d'écouvillons rectaux dopés avec un matériel de référence de chaque cible à la concentration revendiquée.

Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour toutes les cibles du CRE ELITE MGB Kit avec des échantillons d'écouvillons rectaux sur le ELITE InGenius.

11.2 Efficacité de détection (inclusivité)

L'efficacité de détection de différents variants des gènes de résistance aux carbapénèmes a été évaluée par une comparaison *in silico* des séquences des sondes et des amorces du test avec les séquences disponibles dans la base de données de nucléotides du NCBI.

L'analyse a montré une forte conservation de séquence et une absence de mutations significatives pour les variants indiqués dans le tableau suivant.

Tableau 13

cible	Variants susceptibles d'être détectés par le produit CRE ELITE MGB® Kit
KPC	KPC-01, KPC-02, KPC-03, KPC-04, KPC-05, KPC-06, KPC-07, KPC-08, KPC-09, KPC-10, KPC-11, KPC-12, KPC-13, KPC-14, KPC-15, KPC-16, KPC-17, KPC-18, KPC-19, KPC-21, KPC-22, KPC-25, KPC-33, KPC-47e, KPC-56a, KPC-63d, KPC-272, KPC-484, KPC-629, KPC-727, KPC-860.
NDM	NDM-01, NDM-02, NDM-03, NDM-04, NDM-05, NDM-06, NDM-07, NDM-08, NDM-09, NDM-10, NDM-12, NDM-13, NDM-15, NDM-16, NDM-17, NDM-32, NDM-40, NDM-221, NDM-255, NDM-264, NDM-265
VIM	VIM-01, VIM-02, VIM-03, VIM-04, VIM-05, VIM-06, VIM-07, VIM-08, VIM-09, VIM-10, VIM-11, VIM-12, VIM-13, VIM-14, VIM-15, VIM-16, VIM-17, VIM-18, VIM-19, VIM-20, VIM-23, VIM-24, VIM-25, VIM-26, VIM-27, VIM-28, VIM-31, VIM-33, VIM-34, VIM-35, VIM-36, VIM-37, VIM-38, VIM-39, VIM-40, VIM-42, VIM-43, VIM-44, VIM-45, VIM-46, VIM-47, VIM-49, VIM-50, VIM-51

Tableau 13 (continued)

cible	Variants susceptibles d'être détectés par le produit CRE ELITE MGB® Kit
IMP	IMP-01, IMP-02, IMP-03, IMP-04, IMP-05, IMP-06, IMP-07, IMP-08, IMP-09, IMP-10, IMP-11, IMP-13, IMP-14, IMP-15, IMP-16, IMP-18, IMP-19, IMP-20, IMP-21, IMP-22, IMP-24, IMP-25, IMP-26, IMP-28, IMP-29, IMP-32, IMP-33, IMP-34, IMP-37, IMP-38, IMP-40, IMP-41, IMP-42, IMP-45, IMP-48, IMP-49, IMP-51, IMP-54, IMP-56, IMP-58
OXA	OXA-48, OXA-162, OXA-163, OXA-181, OXA-199, OXA-204, OXA-232, OXA-244, OXA-245, OXA-370, OXA-405, OXA-416, OXA-439, OXA-484

L'efficacité de détection de différents variants des gènes de résistance aux carbapénèmes a également été vérifiée pour un ensemble de 18 isolats de CRE bien caractérisés. Des échantillons artificiels ont été préparés en dopant les isolats de test dans une matrice rectale négative à des concentrations proches de la LoD. Deux à trois isolats de chaque type de gène KPC, NDM, VIM, IMP et OXA-48-like ont été testés.

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 14 Efficacité de détection (inclusivité) du produit CRE ELITE MGB Kit

Organisme	Isolat	Marqueur de CRE	Concentration (UFC/ mL)	Résultat
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0034	IMP	798	Inclusif
<i>P. aeruginosa</i>	CDC-ARIB-0103	IMP-1	762	Inclusif
<i>P. aeruginosa</i>	CDC-ARIB-0092	IMP-14	762	Inclusif
<i>K. pneumoniae</i>	NCTC 13438	KPC	297	Inclusif
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-1898	KPC-2	297	Inclusif
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-1904	KPC-3	347	Inclusif
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-2146	NDM1	294	Inclusif
<i>E. coli</i>	CDC-ARIB-0150	NDM-5	294	Inclusif
<i>E. coli</i>	CDC-ARIB-0137	NDM-6	294	Inclusif
<i>K. pneumoniae</i>	ST-14 (alias R20)	OXA-181	537	Inclusif
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0140	OXA-181	537	Inclusif
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0066	OXA-232	900	Inclusif
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0075	OXA-232	900	Inclusif
<i>K. pneumoniae</i>	BAA-2524	OXA-48	900	Inclusif
<i>K. pneumoniae</i>	CDC-ARIB-0160	OXA-48	900	Inclusif
<i>K. pneumoniae</i>	NCTC 13440	VIM-1	843	Inclusif
<i>P. aeruginosa</i>	NCTC 13437	VIM-10	843	Inclusif
<i>P. aeruginosa</i>	CDC-ARIB-0054	VIM-4	843	Inclusif

Tous les isolats de CRE testés ont été détectés et se sont révélés inclusifs par le CRE ELITE MGB Kit à des concentrations d'environ 300 à 900 UFC/mL.

L'efficacité de détection de différents variants des gènes de résistance aux carbapénèmes a également été vérifiée pour un ensemble de 114 isolats de culture de CRE caractérisés. Chaque échantillon a été dilué à l'aide du « eNAT™ kit » puis a été testé à l'aide du CRE ELITE MGB Kit et du ELITE InGenius en mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR). Les isolats de culture étaient représentatifs des différents genres d'*Enterobacteriaceae* (p. ex., *K. pneumoniae*, *E. coli*, *E. cloacae*, *C. koseri*).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 15 Efficacité de détection (inclusivité) du produit CRE ELITE MGB Kit

Échantillons	N	Positif	Négatif	Non valide
Isolats de culture positifs pour KPC	22	22	0	0
Isolats de culture positifs pour OXA-48-like	35	35	0	0
Isolats de culture positifs pour NDM	23	23	0	0
Isolats de culture positifs pour IMP	11	11	0	0
Isolats de culture positifs pour VIM	17	17	0	0
Isolats de culture positifs pour OXA-48 et NDM	6	6	0	0

Tous les isolats de CRE testés ont été détectés et se sont révélés inclusifs par le CRE ELITE MGB Kit.

11.3 Marqueurs potentiellement interférents

La réactivité croisée potentielle de l'analyse avec d'autres cibles non souhaitées a tout d'abord été évaluée par une analyse *in silico* des séquences disponibles dans la base de données de nucléotides NCBI.

Un alignement des séquences des sondes et amorces avec les séquences disponibles dans la base de données, y compris les organismes raisonnablement « attendus » dans les échantillons cliniques – tels que la flore commune des organismes opportunistes rectaux, des virus, des cellules, des parasites intestinaux et des organismes étroitement apparentés produisant des bêta-lactamases – a montré l'absence d'homologies significatives et n'a indiqué aucune interférence potentielle.

L'absence de réactivité croisée avec d'autres organismes étroitement apparentés (résistance associée) a également été vérifiée en testant en triple des échantillons des isolats indiqués dans le tableau ci-dessous à la concentration de 10^6 UFC/mL.

Tableau 16 Marqueurs potentiellement interférents du produit CRE ELITE MGB Kit

Organisme	Isolat	Marqueur de résistance aux antibiotiques	Concentration (UFC/mL)	Résultat
<i>K. pneumoniae</i>	700603	SHV	10^6	Aucune réactivité croisée
<i>E. coli</i>	BAA-202	SHV	10^6	Aucune réactivité croisée
<i>E. coli</i>	BAA-201	TEM	10^6	Aucune réactivité croisée
<i>S. marcescens</i>	14-13-A11	SME	10^6	Aucune réactivité croisée
<i>S. marcescens</i>	14-13-A12	SME	10^6	Aucune réactivité croisée
<i>A. baumannii</i>	13301	OXA-23	10^6	Aucune réactivité croisée

Tableau 16 Marqueurs potentiellement interférents du produit CRE ELITE MGB Kit (continued)

Organisme	Isolat	Marqueur de résistance aux antibiotiques	Concentration (UFC/mL)	Résultat
A. baumannii	13302	OXA-25	10 ⁶	Aucune réactivité croisée
A. baumannii	13303	OXA-26	10 ⁶	Aucune réactivité croisée
A. baumannii	13304	OXA-27	10 ⁶	Aucune réactivité croisée
A. baumannii	13305	OXA-58	10 ⁶	Aucune réactivité croisée
A. baumannii	13420	Clone SE de OXA-51-like	10 ⁶	Aucune réactivité croisée
K. pneumoniae	DICON-185	CTX-M-1	10 ⁶	Aucune réactivité croisée
E. coli	DICON-003	CTX-M-1	10 ⁶	Aucune réactivité croisée
E. coli	DICON-178	CTX-M-9	10 ⁶	Aucune réactivité croisée
K. pneumoniae	DICON-005	CTX-M-9	10 ⁶	Aucune réactivité croisée
E. cloacae	NCTC 13464	CTX-M-9	10 ⁶	Aucune réactivité croisée
E. coli	13353	CTX-M-15	10 ⁶	Aucune réactivité croisée
K. pneumoniae	CDC-ARIB-0044	CTX-M-15	10 ⁶	Aucune réactivité croisée

À l'exception de l'isolat DICON185 de *K. pneumoniae*, tous les isolats se sont révélés négatifs pour 3 réplicats sur 3 lorsqu'ils ont été testés avec le CRE ELITE MGB Kit. L'isolat DICON185 de *K. pneumoniae* a généré un signal positif pour un des 3 réplicats. Suite à un nouveau test avec 5 réplicats, l'isolat a généré 5 résultats négatifs sur 5 et il a été considéré qu'il n'exerçait aucune réactivité croisée.

11.4 Substances interférentes

Des substances potentiellement interférentes, à leurs concentrations cliniquement pertinentes les plus élevées, ont été dopées individuellement dans une matrice rectale négative contenant des isolats de CRE à un niveau de concentration d'environ 3 x la LoD. Les substances testées étaient les suivantes : lavement (huile de vaseline), lubrifiant spermicide (Nonoxynol-9), médicaments antidiarrhéiques (sous-salicylate de bismuth), laxatifs (sennosides), antibiotique (vancomycine), antiacides (acide alginique/hydroxyde d'aluminium/trisilicate de magnésium, carbonate de calcium, cimétidine, oméprazole), composants fécaux (acide palmitique, acide stéarique, mucine, ADN génomique humain, leucocytes humains, sang total humain). Un (1) isolat de chaque type de gène KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48 et OXA-181 a été testé en triple à l'aide du CRE ELITE MGB Kit et du système ELITE InGenius.

Aucune des substances testées n'a interféré avec le CRE ELITE MGB® Kit.

L'éventuelle interférence pendant la réaction d'amplification du 2-propanol, utilisé dans le processus d'extraction, a été évaluée en testant un ADN extrait d'une matrice rectale négative contenant les isolats de CRE à un niveau de concentration d'environ 400 UFC/mL. Un (1) isolat de chaque type de gène KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48 et OXA-181 a été testé en triple à l'aide du CRE ELITE MGB Kit et du système ELITE InGenius.

Le test a montré que, jusqu'à une concentration de 10 % de 2-propanol, le produit CRE ELITE MGB Kit ne génère aucun résultat faux négatif.

11.5 Absence de contamination croisée

L'absence de contamination croisée entre les échantillons positifs et négatifs ou de transfert d'une analyse à une autre a été vérifiée en effectuant 3 analyses intégrées (extraction de l'ADN à partir du tube primaire suivie d'une PCR) avec 6 échantillons fortement positifs pour KPC à 10^6 UFC/mL dans un milieu eNAT, en alternance avec 6 échantillons négatifs de milieu eNAT.

Aucune contamination croisée inter-positions ni aucun effet de transfert inter-analyses n'a été observé avec le système ELiTe InGenius™ après le test de 18 échantillons positifs et de 18 échantillons négatifs selon une configuration en damier.

11.6 Défaillance de l'ensemble du système

Le taux de défaillance de l'ensemble du système conduisant à des résultats faux négatifs a été vérifié par l'analyse de 50 échantillons dopés avec le gène IMP, préparés à partir d'isolats dans une matrice rectale négative. L'analyse a généré un résultat de 0 %.

Les 50 échantillons de matrice rectale négative ont été dopés avec un isolat d'IMP à une concentration finale d'environ 400 UFC/mL. Chaque échantillon du panel a été testé sur le système ELiTe InGenius™ en effectuant la procédure d'analyse complète à partir du tube primaire.

Tous les échantillons testés étaient positifs avec le CRE ELiTe MGB Kit.

11.7 Répétabilité

La répétabilité de l'analyse a été testée sur le **ELiTe InGenius** par l'analyse d'un panel d'échantillons d'écouvillons rectaux, comprenant un échantillon négatif et trois échantillons positifs (souches de CRE KPC + NDM + OXA, VIM et IMP) à une concentration faible et modérée.

Un résumé des résultats de la répétabilité sur le ELiTe InGenius est présenté ci-dessous.

Tableau 17 Répétabilité sur le ELiTe InGenius

Cible	Type d'échantillon	Ct moyen	EC	% CV
KPC	Faiblement positif	34,82	0,48	1,4 %
	Modérément positif	33,84	0,49	1,4 %
NDM	Faiblement positif	36,87	0,51	1,4 %
	Modérément positif	35,21	0,24	0,7 %
OXA	Faiblement positif	34,80	0,32	0,9 %
	Modérément positif	33,17	0,32	1,0 %
VIM	Faiblement positif	35,26	0,19	0,5 %
	Modérément positif	33,47	0,20	0,6 %
IMP	Faiblement positif	35,72	0,73	2,0 %
	Modérément positif	33,90	0,43	1,3 %
IC	n.a.	29,56	0,43	1,5 %
	n.a.	29,81	0,61	2,0 %

La répétabilité de l'analyse a été vérifiée sur le **ELiTe BeGenius** par l'analyse d'un panel d'échantillons d'écouvillons rectaux, comprenant un échantillon négatif et quatre échantillons positifs dopés avec des matériels de référence de chaque souche à une faible concentration.

Un exemple des résultats de la répétabilité sur le ELiTe BeGenius est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 18 Répétabilité intra-session sur le ELITE BeGenius

Échantillon	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			Concor- dance (%)
		Ct moyen	EC Ct	% CV	Ct moyen	EC Ct	% CV	Ct moyen	EC Ct	% CV	
Négatif	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 %
NDM + OXA-48	6	33,85	0,15	0,44	-	-	-	33,33	0,45	1,35	100 %
VIM + KPC	6	30,91	0,21	0,67	30,02	0,31	1,03	-	-	-	100 %
IMP + OXA-181	6	32,38	0,23	0,72	-	-	-	34,45	0,24	0,70	100 %

Tableau 19 Répétabilité inter-sessions sur le ELITE BeGenius

Échantillon	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			Concor- dance (%)
		Ct moyen	EC Ct	% CV	Ct moyen	EC Ct	% CV	Ct moyen	EC Ct	% CV	
Négatif	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 %
NDM + OXA-48	12	34,01	0,31	0,92	-	-	-	33,33	0,38	1,13	100 %
VIM + KPC	12	31,06	0,48	1,53	30,52	0,60	1,96	-	-	-	100 %
IMP + OXA-181	12	32,94	0,68	2,05	-	-	-	34,52	0,44	1,28	100 %

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

11.8 Reproductibilité

La reproductibilité de l'analyse a été testée sur le **ELITE InGenius** par l'analyse d'un panel d'échantillons d'écouvillons rectaux, comprenant un échantillon négatif et trois échantillons positifs (souches de CRE KPC + NDM + OXA, VIM et IMP) à une concentration faible et modérée.

Un résumé des résultats de la reproductibilité sur le ELITE InGenius est présenté ci-dessous.

Tableau 20 Reproductibilité sur le ELITE InGenius

Cible	Type d'échantillon	Ct moyen	Inter-instruments		Inter-lots	
			EC	% CV	EC	% CV
KPC	Faiblement positif	35,00	0,289	0,83 %	0,214	0,61 %
	Modérément positif	34,53	0,428	1,24 %	0,312	0,90 %
NDM	Faiblement positif	36,44	0,223	0,61 %	0,000	0,00 %
	Modérément positif	35,32	0,317	0,90 %	0,000	0,00 %
OXA	Faiblement positif	33,65	0,140	0,42 %	0,089	0,26 %
	Modérément positif	33,16	0,169	0,51 %	0,207	0,62 %

Tableau 20 Reproductibilité sur le ELITE InGenius (continued)

Cible	Type d'échantillon	Ct moyen	Inter-instruments		Inter-lots	
			EC	% CV	EC	% CV
VIM	Faiblement positif	36,02	0,444	1,23 %	0,489	1,36 %
	Modérément positif	34,50	0,289	0,84 %	0,412	1,19 %
IMP	Faiblement positif	37,18	0,291	0,78 %	0,549	1,48 %
	Modérément positif	35,21	0,575	1,63 %	0,783	2,22 %
IC	n.a.	29,17	0,397	1,36 %	0,911	3,12 %

La reproductibilité de l'analyse a été vérifiée sur le **ELITE BeGenius** par l'analyse d'un panel d'échantillons d'écouvillons rectaux, comprenant un échantillon négatif et quatre échantillons positifs dopés avec des matériels de référence de chaque souche à une faible concentration.

Un exemple de la reproductibilité sur le ELITE BeGenius est présenté dans le tableau ci-dessous.

Tableau 21 Reproductibilité inter-lots sur le ELITE BeGenius

Échantillon	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			Concordance (%)
		Ct moyen	EC Ct	% CV	Ct moyen	EC Ct	% CV	Ct moyen	EC Ct	% CV	
Négatif	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 %
NDM + OXA-48	12	34,10	0,30	0,89	-	-	-	33,34	0,40	1,20	100 %
VIM + KPC	12	31,14	0,31	1,00	30,10	0,24	0,80	-	-	-	100 %
IMP + OXA-181	12	32,69	0,43	1,31	-	-	-	34,35	0,25	0,74	100 %

Tableau 22 Reproductibilité inter-instruments sur le ELITE BeGenius

Échantillon	N	NDM VIM IMP			KPC			OXA			Concordance (%)
		Ct moyen	EC Ct	% CV	Ct moyen	EC Ct	% CV	Ct moyen	EC Ct	% CV	
Négatif	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100 %
NDM + OXA-48	12	34,23	0,31	0,91	-	-	-	33,49	0,48	1,43	100 %
VIM + KPC	12	31,24	0,21	0,68	30,13	0,25	0,83	-	-	-	100 %
IMP + OXA-181	12	34,12	1,28	3,74	-	-	-	34,89	1,18	3,37	100 %

Dans le test de reproductibilité, le CRE ELITE MGB Kit a détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct de la cible (en tant que % CV) de 5 %.

11.9 Spécificité diagnostique : confirmation des échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en analysant des échantillons d'écouvillons rectaux et d'hémoculture négatifs pour une CRE.

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 23 Spécificité diagnostique

Échantillons	N	positif	négatif	Spécificité diagnostique (%)
Écouvillon rectal négatif pour une CRE	52	0	52	100 %
Hémoculture négative pour une CRE	45	2	43	95,5 %

La valeur seuil Ct de l'IC a été définie à 34 pour les échantillons d'écouvillons rectaux et d'hémoculture lorsqu'ils ont été testés sur les ELITE InGenius et ELITE BeGenius.

11.10 Sensibilité diagnostique : confirmation des échantillons positifs

La sensibilité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en analysant des échantillons d'écouvillons rectaux et d'hémoculture, positifs pour une CRE ou dopés avec des isolats de CRE.

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 sensibilité 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 24 Sensibilité diagnostique

Échantillons	N	positif	négatif	Sensibilité diagnostique (%)
Écouvillon rectal positif pour KPC	25	25	0	100 %
Écouvillon rectal positif pour VIM	4	4	0	
Écouvillon rectal positif pour OXA-48	1	1	0	
Écouvillon rectal dopé avec KPC (isolat 207-1 KPC-3)	12	12	0	
Écouvillon rectal dopé avec KPC (isolat B1 KPC-2)	12	11	1	
Écouvillon rectal dopé avec NDM (isolat NDM-1)	12	12	0	
Écouvillon rectal dopé avec NDM (isolat NDM-5)	12	12	0	
Écouvillon rectal dopé avec VIM (isolat VIM-1)	12	12	0	
Écouvillon rectal dopé avec VIM (isolat VIM-4)	12	12	0	
Écouvillon rectal dopé avec IMP (isolat <i>K. pneumoniae</i> AR-Bank 0034)	12	12	0	
Écouvillon rectal dopé avec IMP (isolat <i>E. coli</i> NCTC 13476)	12	12	0	
Écouvillon rectal dopé avec OXA-48-like (isolat OXA-48)	12	12	0	
Écouvillon rectal dopé avec OXA-48 (isolat OXA-232)	12	12	0	
Hémoculture positive pour KPC	16	16	0	
Hémoculture positive pour OXA-48	5	5	0	
Hémoculture positive pour NDM	4	4	0	
Hémoculture positive pour IMP	2	2	0	
Hémoculture positive pour VIM	2	2	0	
Hémoculture dopée avec OXA-48	5	5	0	
Hémoculture dopée avec NDM	5	5	0	
Hémoculture dopée avec VIM	5	5	0	
Hémoculture dopée avec IMP	5	5	0	

NOTE!

Les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et les instruments sont présentés à la section 7 de la Fiche technique du produit « CRE ELITe MGB® Kit », FTP RTS200ING.

12 BIBLIOGRAPHIE

L. S. Tzouveleakis et al. (2012) *Clin. Microbiol. Rev.* 25(4): 682 - 707.

13 LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser ce produit uniquement avec les échantillons cliniques suivants : écouvillons rectaux et hémoculture.

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

Ne pas utiliser d'échantillons contenant une quantité excessive de matrice fécale avec ce produit : les échantillons à forte turbidité inhibent la réaction d'amplification des acides nucléiques et peuvent entraîner des résultats non valides.

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 une contamination par les échantillons cliniques positifs, les Positive Controls 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 équipements de protection individuelle 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.

Il est nécessaire de disposer de zones séparées pour la préparation du mélange réactionnel complet et l'extraction/la préparation des réactions d'amplification et l'amplification/la détection des produits d'amplification afin d'éviter d'obtenir des résultats « faux positifs ».

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

Un résultat négatif obtenu avec ce produit signifie que l'ADN cible n'a pas été 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 « Caractéristiques de performance », page 15). Dans ce cas, le résultat pourrait être un faux négatif.

Un résultat négatif obtenu après un résultat précédemment positif n'indique pas nécessairement le succès de l'éradication.

Les résultats obtenus avec ce produit peuvent parfois être « non valides » en raison d'une défaillance du contrôle interne et nécessitent d'effectuer un nouveau test, ce qui peut entraîner un retard d'obtention des résultats finaux.

Bien que rares, des polymorphismes au sein de la région du génome bactérien couverte par les amorces et les sondes du produit peuvent affecter la détection.

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 25

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 4 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de stockage] ou dans la Cooler Unit). 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 26

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 27

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 4 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans la « Inventory Area » [Zone de Stockage] ou dans la Cooler Unit). Ne pas laisser le PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.

Tableau 27 (continued)

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
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 « telle quelle » ou 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 28

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 biologique 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 29

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



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 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.

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITe MGB®, the ELITe MGB® logo, ELITe InGenius® and ELITe BeGenius® sont des marques déposées d'ELITechGroup au sein de l'Union européenne.
eSWAB® est une marque déposée de COPAN Italia S.p.A.

Appendix A CRE ELiTe MGB Kit utilisé en association avec les plateformes Genius series ®



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 **CRE ELiTe MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test qualitatif de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la détection de l'ADN des gènes de résistance aux carbapénèmes (KPC, NDM, VIM, IMP, OXA-48-like) des *Enterobacteriaceae*.

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'écouvillons rectaux et d'hémoculture.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic et au dépistage des infections par des *Enterobacteriaceae* positives pour des gènes de résistance aux carbapénèmes, en association avec les données cliniques et d'autres résultats d'analyse de laboratoire du patient.

Le produit est également compatible avec la caractérisation des *Enterobacteriaceae* positives pour des gènes de résistance aux carbapénèmes dans des échantillons d'ADN extraits d'isolat de culture.

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

*Pour obtenir la liste complète des variants des gènes détectés par ce produit, se reporter à la section **11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE** page 19

Séquence amplifiée

Séquence	Gène	Fluorophore	Canal
Cible 1	Famille de gènes KPC	FAM	KPC
Cible 2	Famille de gènes NDM, VIM, IMP	AP593	NDM VIM IMP
Cible 3	Famille de gènes OXA-48-like	AP639	OXA
Contrôle interne	séquence artificielle IC2	AP525	IC

Matrice validée

› Écouvillon rectal
› Hémoculture

Contenu du kit et produits associés

CRE ELITE MGB Kit (RTS200ING)		CRE- ELITE Positive Control (CTR200ING)	
 X 8		 X 3	
CRE PCR Mix 8 tubes de 280 µL 12 réactions par tube 96 réactions par kit 4 cycles de congélation/décongélation par tube		CRE Positive Control 3 tubes de 160 µL 4 réactions par tube 12 réactions par kit 4 cycles de congélation/décongélation	
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. Consommables pour ELITE InGenius et ELITE BeGenius (voir le mode d'emploi des instruments ELITE InGenius et ELITE BeGenius)	› CPE - Internal Control : CTRCPE › eNAT™ kit (Copan, réf. 606CS01R), › FecalSwab™ (COPAN, réf. 470CE)
--	--

Protocole ELITE InGenius et ELITE BeGenius

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

Performances de ELITE InGenius et ELITE BeGenius

Matrice	Cible	limite de détection	Sensibilité	Spécificité
Écouvillon rectal	KPC	99 UFC/mL	100 %	100 %
	NDM	144 UFC/mL		
	VIM	399 UFC/mL		
	IMP	273 UFC/mL		
	OXA-48	300 UFC/mL		
	OXA-181	179 UFC/mL		
Hémoculture	KPC	N.A.	100 %	95,5 %
	NDM	N.A.		
	VIM	N.A.		
	IMP	N.A.		
	OXA-48	N.A.		
	OXA-181	N.A.		

N.A. = non applicable

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	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
hémoculture	-	≤ 24 heures	-	-	-
écouvillon rectal	prélevé avec le eNAT™ kit	-	≤ 1 mois	≤ 6 mois	Longues périodes
écouvillon rectal	prélevé avec le FecalSwab™ kit	-	≤ 3 jours	-	-

Avant l'analyse, diluer l'échantillon d'hémoculture à 1/1000 dans de l'eau ultrapure (au moins 10 µL d'échantillon dans 10 mL d'eau ultrapure), agiter au vortex et transférer 0,2 mL des échantillons dilués dans un tube d'extraction (pour l'instrument ELITE InGenius) ou dans un tube Sarstedt de 2 mL (pour l'instrument ELITE BeGenius).

Avant l'analyse d'un écouvillon rectal, 0,5 mL d'échantillon dans le milieu FecalSwab™ doit être transféré dans un tube eNAT™ neuf avec 2,0 mL de milieu, et agité au vortex. Après l'ajout de 0,5 mL d'échantillon dans le milieu FecalSwab™, le tube eNAT™ peut être chargé directement dans le système en tant que tube primaire. Les échantillons dilués dans un milieu eNAT™ peuvent être conservés dans les mêmes conditions que celles indiquées dans le tableau ci-dessus.

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 code-barres des échantillons à l'aide du lecteur de code-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon
4. Sélectionner le « Protocole de test » (Assay Protocol) souhaité : CRE ELiTe_RcS_200_100 ou CRE ELiTe_BC_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 (Cassette de PCR), les cartouches d'extraction ELiTe InGenius SP 200, et tous les consommables requis et échantillons à extraire.	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 code-barres des échantillons à l'aide du lecteur de code-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon
4. Sélectionner le « Protocole de test » (Assay Protocol) souhaité : CRE ELiTe_RcS_200_100 ou CRE ELiTe_BC_200_100 ou CRE ELiTe_PC ou CRE 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 l'« Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7. Charger : la cassette de PCR, 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

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. Allumer ELITE BeGenius. Se connecter avec le nom d'utilisateur et le mot de passe. Sélectionner le mode « CLOSED » (Fermé).	2. Vérifier les contrôles : Positive Control Negative Control dans le menu « Controls ». 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 « Protocole de test » (Assay Protocol) souhaité : CRE ELITE_Be_RcS_200_100 ou CRE ELITE_Be_BC_200_100 <u>Remarque</u> : 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 Internal Control (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 » avec les cartouches d'extraction « PCR Cassette » avec « 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 <u>Contrôles</u> : 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). Pour les <u>éluats</u> : 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'éluat extrait).
4. Sélectionner le « Protocole de test » (Assay Protocol) souhaité : CRE ELITE_Be_RcS_200_100 ou CRE ELITE_Be_BC_200_100 ou CRE ELITE_Be_PC ou CRE 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 » avec la « PCR Cassette »
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