

Instructions for use

ESBL ELITe MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN



REF RTS201ING

UDI 08033891486228



HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Rév.	Avis de modification	Date (jj/mm/aa)
03	Extension de l'utilisation du produit en association avec le ELITe BeGenius® et les matrices d'écouvillons rectaux et d'hémoculture.	27/05/25
02	Corrections formelles à la section « Échantillons et contrôles »	30/07/18
01	Extension de l'utilisation du produit avec la matrice d'hémoculture, en association avec l'instrument ELITe InGenius®.	05/02/18
00	Développement de nouveaux produits	30/01/17

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	27
13 LIMITES DE LA PROCÉDURE.....	27
14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS	28
15 LÉGENDE DES SYMBOLES	31
16 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	31
Appendix A QUICK START GUIDE.....	33

1 APPLICATION

Le produit **ESBL 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 bêta-lactamases à spectre étendu **CTX-M-1**, **CTX-M-9**, **CTX-M-14** et **CTX-M-15*** d'*Enterobacteriaceae* dans des échantillons d'ADN extraits d'écouvillons rectaux et d'hémoculture.

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 dans le diagnostic et le dépistage d'infections par les entérobactéries positives pour des gènes de bêta-lactamases à spectre étendu, 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 entérobactériacées positives pour des gènes de bêta-lactamases à spectre étendu dans des échantillons d'ADN extraits d'isolats 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 au chapitre « Caractéristiques de performance ».

2 PRINCIPE DU TEST

Le test est une PCR qualitative en temps réel qui détecte l'ADN des gènes de bêta-lactamases à spectre étendu **CTX-M-1**, **CTX-M-9**, **CTX-M-14** et **CTX-M-15** d'*Enterobacteriaceae* isolé à partir d'échantillons et amplifié à l'aide du réactif du test, l'ESBL 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.

3 DESCRIPTION DU PRODUIT

Le **ESBL ELITe MGB Kit** fournit le réactif du test, l'**ESBL PCR Mix**, un PCR Mix optimisé et stabilisé qui contient les amorces et les sondes spécifiques pour :

- la famille de gènes **CTX-M-1** et **CTX-M-15**, détectés dans le Canal **CTX-M1-9-14-15** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée par le colorant AquaPhluor 593 (AP593),

- la famille de gènes **CTX-M-9** et **CTX-M-14**, détectés dans le Canal **CTX-M1-9-14-15** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor 593 (AP593),

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).

L'**ESBL PCR Mix** contient également le tampon, le chlorure de magnésium, les nucléotides triphosphates, les stabilisateurs et l'enzyme Taq ADN polymérase avec activation thermique (Hot start).

NOTE!

Les quatre gènes de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) sont détectés par deux sondes différentes (l'une pour la famille de gènes CTX-M-1 et CTX-M-15, l'autre pour la famille de gènes CTX-M-9 et CTX-M-14) et marqués avec le même colorant fluorescent (fluorochrome), et, par conséquent, ne peuvent pas être différenciés.

Le produit **ESBL ELITE MGB Kit** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **96 tests** sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius**, en utilisant **20 µL** par réaction.

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

4 MATÉRIEL FOURNI

Tableau 1

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
ESBL PCR Mix réf. RTS201ING	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).
- Tubes stériles à capuchon vissant de 2,0 mL (Sarstedt, Allemagne, réf. 72.694.005).
- Eau de qualité biologie moléculaire.
- Bouillon trypticase soja

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) ESBL ELITe_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Positive Control ESBL ELITe_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Negative Control ESBL ELITe_RcS_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons d'écouvillons rectaux ESBL ELITe_BC_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons d'hémoculture	ELITe InGenius SP200 (EG SpA, réf. INT032SP200) ELITe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, réf. INT032CS) ELITe InGeniusPCR Cassette (EG SpA, réf. INT035PCR) ELITe InGenius Waste Box (EG SpA, réf. F2102-000) 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., réf. TF-350-L-R-S), avec le ELITe InGenius uniquement 1000 µL Filter Tips Tcan (Tcan, Suisse, réf. 30180118), avec le ELITe BeGenius uniquement CPE – Internal Control (EG SpA, réf. CTRCPE) ESBL — ELITe Positive Control (EG SpA, réf. CTR201ING) eNAT™ kit (Copan, réf. 606CS01R), FecalSwab™ (Copan, réf. 470CE)
ELITe BeGenius (EG SpA réf. INT040) ELITe BeGenius Software version 2.2.1. (ou versions ultérieures) ESBL ELITe_Be_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Positive Control ESBL ELITe_Be_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Negative Control ESBL ELITe_Be_RcS_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons d'écouvillons rectaux ESBL 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 réduire la dispersion dans l'environnement afin d'éviter tout risque de contamination.

Les PCR Cassette (Cassettes de PCR) doivent être manipulées avec précaution et ne doivent jamais être ouvertes afin d'éviter la diffusion des produits de PCR dans l'environnement, et toute contamination des échantillons et des réactifs.

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)
ESBL PCR Mix	-20 °C ou température plus basse (à l'abri de la lumière)	un mois	jusqu'à sept	jusqu'à sept sessions d'analyse distinctes* de trois heures chacune

*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	> 6 mois
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.

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 une anse, agiter au vortex et transférer 0,2 mL d'échantillons 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 **ESBL 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 les **ELITe InGenius** ou **ELITe BeGenius** avec les matrices indiquées.

Tableau 5 Protocoles de test pour le ESBL ELITe MGB Kit

Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
écouvillon rectal	ELITe InGenius	ESBL 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	ESBL ELITe_Be_RcS_200_100	Positif/ Négatif	
hémocultu-re	ELITe InGenius	ESBL 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	ESBL ELITe_Be_BC_200_100	Positif/ Négatif	

NOTE!

Vérifier si le tube primaire et le volume de l'échantillon sont compatibles avec le ELITe InGenius ou le ELITe BeGenius, en suivant le mode d'emploi du kit d'extraction **ELITeInGeniusSP200** (EG SpA, réf. INT032SP200).

Le volume de l'échantillon contenu dans un tube primaire varie selon le type de tube chargé. Se reporter au mode d'emploi du kit d'extraction pour obtenir de plus amples informations sur le paramétrage et l'exécution de la procédure d'extraction.

Si requis, 200 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube d'extraction (pour le ELITe InGenius) ou dans un tube Sarstedt de 2 mL (pour le ELITe BeGenius).

NOTE!

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

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

Se reporter au paragraphe « Substances potentiellement interférentes » de la section **11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 19** pour 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 **ESBL - ELITe Positive Control** (non inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **ESBL ELITe_PC** ou **ESBL 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) **ESBL ELITe_NC** ou **ESBL 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 les Positive et Negative Controls. 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 majeur.

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 **ESBL 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 **ESBL ELITe MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITe InGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

- Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement]),
- 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 paramétriser 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 paramétriser 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. Chaque tube permet d'effectuer 4 réactions.	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	Selectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Selectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Selectionner « 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).	Selectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).
8	Selectionner 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 7 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 **ESBL 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 paramétriser 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 (canal **CTX-M1-9-14-15**) et le Internal Control (canal **IC**) avec les paramètres des protocoles de test (Assay Protocols) **ESBL ELITe_RcS_200_100** et **ESBL 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
ESBL Positive Control	APPROUVÉ
2) Negative Control	Statut
ESBL - 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
CTX-M1-9-14-15:DNA detected (CTX-M1-9-14-15 : ADN détecté).	L'ADN du gène CTX-M-1, CTX-M-15, CTX-M-9 ou CTX-M-14 a été détecté dans l'échantillon.
CTX-M1-9-14-15:DNA Not detected or below LoD (CTX-M1-9-14-15 : ADN non détecté ou inférieur à LoD).	L'ADN du gène CTX-M-1, CTX-M-15, CTX-M-9 et CTX-M-14 n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour ces gènes, ou la concentration de ces derniers 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 28](#) »).

Les échantillons appropriés pour l'analyse, mais dans lesquels il n'a pas été possible de détecter d'ADN des gènes CTX-M-1, CTX-M-15, CTX-M-9 et CTX-M-14 de bêta-lactamases à spectre étendu sont décrits comme suit : « CTX-M-1-9-14-15:DNA Not detected or below LoD » (CTX-M1-9-14-15 : ADN non détecté ou inférieur à LoD). Dans ce cas, il n'est pas possible d'exclure le fait que de l'ADN des gènes CTX-M-1, CTX-M-15, CTX-M-9 et CTX-M-14 de bêta-lactamases à spectre étendu soit présent à une concentration inférieure à la limite de détection de l'analyse (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 **ESBL ELITe MGB Kit** avec le **ELITe BeGenius** comporte trois étapes :

Tableau 10

ÉTAPE 1	Vérification de la préparation du système
ÉTAPE 2	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	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 **ESBL ELITe MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITe BeGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

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

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

NOTE!

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

Avant de paramétriser 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 paramétriser 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'élation 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'élation) fourni avec le ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil)	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
4	Retirer tous les « Racks » de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
5	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).	Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).
6	Charger les échantillons dans le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons). Lorsque des tubes secondaires « 2 mL Tubes » (Tubes de 2 mL) sont chargés, utiliser les adaptateurs bleus pour le « Sample Rack » (Compartiment des échantillons).	Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Rack d'élation).	Charger les tubes de Positive Control et Negative Control dans le « Elution Rack » (Portoir d'élation).

Tableau 11 (continued)

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

Tableau 11 (continued)

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

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

NOTE!

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

NOTE!

À la fin de l'analyse, le **PCR Mix** peut être retiré de l'instrument, bouché et stocké à -20 °C ou à une température plus basse, ou peut conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 7 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 **ESBL ELITe MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

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

NOTE!

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

11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

11.1 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 un panel de 4 souches de BLSE, une de chacun des types de gène suivants : CTX-M-1, CTX-M-9, CTX-M-14 et CTX-M-15 en association avec des échantillons d'écouvillons rectaux. La LoD de chaque souche de BLSE 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

Gène	Isolat bactérien	LoD (UFC/mL)	Intervalle de confiance à 95 % (UFC/mL)	
			Limite inférieure	Limite supérieure
CTX-M-1	<i>E. coli</i> , DICON-091	55	43	79
CTX-M-9	<i>E. coli</i> , DICON-055	29	21	46
CTX-M-14	<i>E. coli</i> , DICON-045	273	220	384
CTX-M-15	<i>E. coli</i> , NCTC13400	36	28	55

La LoD calculée a été vérifiée sur les instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius, en testant des échantillons d'écouvillons rectaux et d'hémoculture 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 ESBL ELITe MGB Kit avec les échantillons d'écouvillons rectaux et d'hémoculture, à la fois sur le ELITe BeGenius et le ELITe InGenius.

11.2 Efficacité de détection (inclusivité)

L'efficacité de détection de différents variants des gènes de bêta-lactamases à spectre étendu (inclusivité) a été évaluée par une comparaison des séquences avec une base de données de nucléotides.

L'analyse des régions choisies pour l'hybridation des amorces et des sondes fluorescentes dans l'alignement des séquences disponibles dans la base de données des gènes de bêta-lactamases à spectre étendu a montré leur conservation et une absence de mutations significatives pour les variants indiqués dans le tableau suivant.

Tableau 13

Gène	Variants détectés par le produit ESBL ELITe MGB Kit
CTX-M	CTX-M-1, CTX-M-3, CTX-M-9, CTX-M-10, CTX-M-12, CTX-M-13, CTX-M-14, CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-17, CTX-M-19, CTX-M-21, CTX-M-22, CTX-M-23, CTX-M-24, CTX-M-27, CTX-M-28, CTX-M-29, CTX-M-30, CTX-M-32, CTX-M-33, CTX-M-36, CTX-M-38, CTX-M-46, CTX-M-47, CTX-M-48, CTX-M-49, CTX-M-50, CTX-M-51, CTX-M-55, CTX-M-61, CTX-M-64, CTX-M-65, CTX-M-66, CTX-M-67, CTX-M-69, CTX-M-71, CTX-M-73, CTX-M-80, CTX-M-81, CTX-M-82, CTX-M-83, CTX-M-84, CTX-M-85, CTX-M-86, CTX-M-87, CTX-M-90, CTX-M-93, CTX-M-96, CTX-M-98, CTX-M-99, CTX-M-101, CTX-M-102, CTX-M-104, CTX-M-105, CTX-M-106, CTX-M-110, CTX-M-111, CTX-M-112, CTX-M-113, CTX-M-114, CTX-M-116, CTX-M-121, CTX-M-122, CTX-M-123, CTX-M-125, CTX-M-126, CTX-M-129, CTX-M-130, CTX-M-132, CTX-M-134, CTX-M-137, CTX-M-143, CTX-M-148, CTX-M-159, CTX-M-161, CTX-M-164, CTX-M-166, CTX-M-168, CTX-M-170, CTX-M-173, CTX-M-174, CTX-M-175, CTX-M-176, CTX-M-177, CTX-M-179, CTX-M-180, CTX-M-181, CTX-M-182, CTX-M-183, CTX-M-184, CTX-M-186, CTX-M-188, CTX-M-189, CTX-M-190, CTX-M-191

L'efficacité de détection de différents variants de gènes de bêta-lactamases à spectre étendu a été également vérifiée pour un ensemble de 14 isolats de BLSE bien caractérisées. Les échantillons ont été préparés en dopant les isolats du test dans une matrice rectale négative à des concentrations proches de la LoD. Trois à cinq isolats de chaque type de gène CTX-M-1, CTX-M-9, CTX-M-14 et CTX-M-15 ont été testés.

Les résultats finaux sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 14 Efficacité de détection (inclusivité) du produit ESBL ELITe MGB Kit

Organisme	Isolat	Gène	Concentration (UFC/mL)	Résultat
<i>E. coli</i>	DICON-091	CTX-M-1	165	Inclusif
<i>E. coli</i>	DICON-211	CTX-M-1	165	Inclusif
<i>K. pneumoniae</i>	DICON-126	CTX-M-1	165	Inclusif

Tableau 14 Efficacité de détection (inclusivité) du produit ESBL ELITe MGB Kit (continued)

Organisme	Isolat	Gène	Concentration (UFC/mL)	Résultat
K. pneumoniae	DICON-001	CTX-M-1	165	Inclusif
E. coli	DICON-003	CTX-M-1	165	Inclusif
E. coli	DICON-055	CTX-M-9	87	Inclusif
E. coli	DICON-098	CTX-M-9	87	Inclusif
E. coli	DICON-085	CTX-M-9	87	Inclusif
E. coli	DICON-045	CTX-M-14	819	Inclusif
K. pneumoniae	DICON-060	CTX-M-14	819	Inclusif
E. coli	DICON-054	CTX-M-14	819	Inclusif
E. coli	NCTC13400	CTX-M-15	108	Inclusif
E. coli	NCTC13451	CTX-M-15	108	Inclusif
E. coli	NCTC13450	CTX-M-15	108	Inclusif

Tous les isolats des BLSE testés ont été détectés et ont été déclarés inclusifs par le kit ESBL ELITe MGB® à des concentrations d'environ 87 à 819 UFC/mL.

L'efficacité de détection de différents variants des gènes de bêta-lactamases à spectre étendu a également été vérifiée pour un ensemble de 24 isolats de culture de BLSE caractérisées. Chaque échantillon a été dilué à l'aide du « eNAT™ kit » puis testé à l'aide du « ESBL ELITe MGB® Kit » et du système 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*).

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 15

Échantillons	N	positifs	négatifs	non valides
Isolats de culture positifs pour CTX-M-1	1	1	0	0
Isolats de culture positifs pour CTX-M-3	2	2	0	0
Isolats de culture positifs pour CTX-M-14	3	3	0	0
Isolats de culture positifs pour CTX-M-15	18	18	0	0

Tous les isolats de BLSE testés ont été détectés et se sont révélés inclusifs par le ESBL ELITe MGB Kit.

11.3 Marqueurs potentiellement interférants

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 potentiellement présents dans les écouvillons rectaux a également été vérifiée en testant des échantillons des isolats indiqués dans le tableau ci-dessous à la concentration de 10⁶ UFC/mL en triple.

Tableau 16 Marqueurs potentiellement interférents du produit ESBL ELITe MGB Kit

Organisme	Isolat	Concentration (UFC/mL)	Résultat
K. pneumoniae	ATCC 700603	10^6	Aucune réactivité croisée
E. coli	ATCC BAA-201	10^6	Aucune réactivité croisée
S. marcescens	UCLA 14-13-A11	10^6	Aucune réactivité croisée
A. baumannii	NCTC 13301	10^6	Aucune réactivité croisée
A. Iwoffii	ATCC 15309	10^6	Aucune réactivité croisée
B. adolescentis	ATCC 15703	10^6	Aucune réactivité croisée
B. longum	ATCC 15707	10^6	Aucune réactivité croisée
C. jejuni	ATCC 33292	10^6	Aucune réactivité croisée
C. albicans	Zeptometrix Z006	10^6	Aucune réactivité croisée
C. freundii	ATCC 8090	10^6	Aucune réactivité croisée
C. difficile	ATCC 43593	10^6	Aucune réactivité croisée
C. perfringens	ATCC 13124	10^6	Aucune réactivité croisée
P. mirabilis	ATCC 12453	10^6	Aucune réactivité croisée
P. aeruginosa	ATCC 27853	10^6	Aucune réactivité croisée
S. enterica	ATCC 700720	10^6	Aucune réactivité croisée

Tous les isolats se sont révélés négatifs pour 3 réplicats sur 3 lorsqu'ils ont été testés avec le ESBL ELITe MGB Kit.

11.4 Substances interférentes

Les substances potentiellement interférentes, à leurs concentrations les plus élevées cliniquement pertinentes, ont été dopées individuellement dans une matrice rectale négative contenant des isolats de BLSE 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 (chlorhydrate de lopéramide, sous-salicylate de bismuth), laxatifs (sennosides), antibiotique (vancomycine), antiacides (acide alginique/hydroxyde d'aluminium/trisilicate de magnésium, carbonate de calcium), composants fécaux (acide palmitique, acide stéarique, mucine, sang total humain). Un (1) isolat de chaque type de gène CTX-M-1, CTX-M-9 et CTX-M-15 a été testé en triple à l'aide du ESBL ELITe MGB Kit et du ELITe InGenius.

Aucune des substances testées, à leurs concentrations les plus élevées cliniquement pertinentes, n'a montré d'interférences avec le ESBL 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 BLSE à un niveau de concentration d'environ 3 x la LoD. Un (1) isolat de chaque type de gène CTX-M-1, CTX-M-9, CTX-M-14 et CTX-M-15 a été testé en triple à l'aide du ESBL ELITe MGB Kit et du ELITe InGenius.

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

11.5 Absence de contamination croisée

L'absence de contamination croisée entre 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 puis PCR) avec 6 échantillons positifs pour CTX-M-1 à 10^6 UFC/mL dans une matrice rectale négative dans le milieu eNAT, en alternance avec 6 échantillons de matrice rectale négative dans le milieu eNAT.

Tous les échantillons de matrice rectale négative testés se sont avérés négatifs à l'aide du ESBL ELITe MGB Kit.

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 CTX-M-9, préparés à partir d'isolats dans une matrice rectale négative. L'analyse a généré un résultat égal à 0 %.

Les 50 échantillons de matrice rectale négative ont été dopés avec un isolat de CTX-M-9 à une concentration finale d'environ 3 x la LoD (87 UFC/mL). Chaque échantillon du panel a été testé en effectuant l'ensemble de la procédure d'analyse à partir du tube primaire sur le système ELITe InGenius.

Tous les échantillons testés étaient positifs avec le ESBL 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 dopés avec des isolats de BLSE (souches de BLSE CTX-M-1, CTX-M-9 et CTX-M-15) à 3 x la LoD.

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

Tableau 17 Répétabilité intra-session sur le ELITe InGenius

Cible	Sessions	Ct moyen	EC	% CV
CTX-M-1	Jour 1	33,99	0,60	1,77
	Jour 2	34,40	0,56	1,62
CTX-M-9	Jour 1	34,95	0,85	2,43
	Jour 2	35,34	0,43	1,21
CTX-M-15	Jour 1	32,46	0,46	1,43
	Jour 2	32,58	0,18	0,56
IC	Jour 1	27,29	0,43	1,56
	Jour 2	27,22	0,22	0,80

Tableau 18 Répétabilité inter-sessions sur le ELITe InGenius

Cible	Sessions	Ct moyen	EC	% CV
CTX-M-1	Jour 1 + 2	34,19	0,60	1,76
CTX-M-9	Jour 1 + 2	35,14	0,68	1,94
CTX-M-15	Jour 1 + 2	32,52	0,35	1,07
IC	Jour 1 + 2	27,25	0,33	1,21

La répétabilité de l'analyse a été vérifiée sur l'instrument ELITe BeGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons d'écouvillons rectaux, comprenant un échantillon négatif et quatre échantillons positifs dopés avec des matériaux de référence de chaque souche à 3 x la LoD.

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

Tableau 19 Répétabilité intra-session sur le ELITe BeGenius

Échantillon	N	CTX-M1-9-14-15			Concordance (%)
		Ct moyen	EC	% CV	
3 x la LoD de CTX-M-1	6	33,72	0,47	1,39	100 %
3 x la LoD de CTX-M-9	6	32,38	0,31	0,97	100 %
3 x la LoD de CTX-M-14	6	34,43	0,34	0,98	100 %
3 x la LoD de CTX-M-15	6	33,16	0,31	0,94	100 %
Négatif	6	-	-	-	100 %

Tableau 20 Répétabilité inter-sessions sur le ELITe BeGenius

Échantillon	N	CTX-M1-9-14-15			Concordance (%)
		Ct moyen	EC	% CV	
3 x la LoD de CTX-M-1	12	33,43	0,49	1,46	100 %
3 x la LoD de CTX-M-9	12	32,20	0,44	1,36	100 %
3 x la LoD de CTX-M-14	12	34,45	0,36	1,04	100 %
3 x la LoD de CTX-M-15	12	33,20	0,26	0,79	100 %
Négatif	12	-	-	-	100 %

Dans le test de répétabilité, le ESBL 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 %.

11.8 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 dopés avec des isolats de BLSE (souches de BLSE CTX-M-1, CTX-M-9 et CTX-M-15) à 3 x la LoD.

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

Tableau 21 Reproductibilité inter-lots sur le ELITe InGenius

Cible	Ct moyen	EC	% CV
CTX-M-1	33,99	0,58	1,70
CTX-M-9	35,30	0,60	1,70
CTX-M-15	33,30	0,33	1,00
IC	27,58	0,78	2,82

Tableau 22 Reproductibilité inter-instruments sur le ELITe InGenius

Cible	Ct moyen	EC	% CV
CTX-M-1	33,86	0,49	1,46
CTX-M-9	35,26	0,69	1,96
CTX-M-15	33,32	0,46	1,37
IC	27,97	0,75	2,67

La reproductibilité de l'analyse a été vérifiée sur l'instrument **ELITe BeGenius** par l'analyse d'un panel d'échantillons d'écouvillons rectaux, comprenant un échantillon négatif et quatre échantillons positifs dopés avec un matériel de référence de BLSE de chaque souche à 3 x la LoD.

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

Tableau 23 Reproductibilité inter-lots avec le ELITe BeGenius

Échantillon	N	CTX-M1-9-14-15			Concordance (%)
		Ct moyen	EC	% CV	
3 x la LoD de CTX-M-1	12	33,15	0,32	0,97	100 %
3 x la LoD de CTX-M-9	12	32,09	0,37	1,14	100 %
3 x la LoD de CTX-M-14	12	34,61	0,41	1,19	100 %
3 x la LoD de CTX-M-15	12	32,86	0,44	1,35	100 %
Négatif	12	-	-	-	100 %

Tableau 24 Reproductibilité inter-instruments avec le ELITe BeGenius

Échantillon	N	CTX-M1-9-14-15			Concordance (%)
		Ct moyen	EC	% CV	
3 x la LoD de CTX-M-1	12	33,44	0,42	1,26	100 %
3 x la LoD de CTX-M-9	12	32,18	0,39	1,23	100 %
3 x la LoD de CTX-M-14	12	34,59	0,50	1,46	100 %
3 x la LoD de CTX-M-15	12	32,70	0,45	1,39	100 %
Négatif	12	-	-	-	100 %

Dans le test de reproductibilité, le ESBL 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 association avec le **ELITe InGenius** en analysant des échantillons d'écouvillons rectaux et d'hémoculture négatifs pour une BLSE.

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 25

Échantillons	N	positifs	négatifs	non valides	Spécificité diagnostique (%)
Écouvillon rectal négatif pour une BLSE	54	0	54	0	100 %
Hémoculture négative pour une BLSE	37	2	35	0	95 %

La valeur seuil Ct de l'IC a été définie à 31 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 association avec le **ELITe InGenius** en analysant des échantillons d'écouvillons rectaux, positifs pour une BLSE ou dopés avec des isolats de BLSE, et des échantillons d'hémoculture positifs pour une BLSE.

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 26

Échantillons	N	positifs	négatifs	non valides	Sensibilité diagnostique (%)
Écouvillon rectal positif pour CTX-M-1 ou CTX-M-15	38	38	0	0	99,3 %
Écouvillon rectal positif pour CTX-M-9 ou CTX-M-14	9	9	0	0	
Écouvillon rectal positif pour CTX-M-1 ou M-15 et CTX-M-9 ou M-14	4	3	1	0	
Écouvillon rectal dopé avec CTX-M-1 (isolat DICON-091)	24	24	0	0	
Écouvillon rectal dopé avec CTX-M-9 (isolat DICON-055)	24	24	0	0	
Écouvillon rectal dopé avec CTX-M-14 (isolat DICON-045)	24	24	0	0	
Écouvillon rectal dopé avec CTX-M-15 (isolat NCTC13400)	24	23	0	1	
Hémoculture positive	51	51	0	0	100 %

NOTE!

Les données complètes et les résultats des tests effectués pour évaluer les caractéristiques de performance du produit avec les matrices et l'instrument sont présentés dans la Fiche technique du produit « ESBL ELITe MGB Kit », FTP RTS201ING.

12 BIBLIOGRAPHIE

Cantón R. et al., Front Microbiol. 2012 Apr 2;3:110

13 LIMITES DE LA PROCÉDURE

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

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'en 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 27

Réaction Positive Control non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et du Contrôle positif. Vérifier les volumes du PCR Mix et du Positive Control.
Dégradation du PCR Mix.	Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 7 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de stockage] ou dans la Cooler Unit). 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.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 28

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.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 29

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.
Dégénération du PCR Mix.	Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 7 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.
Dégénération de la matrice du Contrôle interne.	Utiliser une nouvelle aliquote du Contrôle Interne
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification avec une dilution à 1:2 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). Répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
Erreur de l'instrument.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 30

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.	<p>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.</p> <p>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.</p> <p>Si une valeur Ct est requise :</p> <ul style="list-style-type: none"> - 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 31

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.	<p>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.</p> <p>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.</p> <p>Introduire les échantillons dans les dernières positions des instruments, comme indiqué par la GUI. Suivre la séquence de chargement indiquée par le logiciel.</p>
Contamination environnementale du laboratoire.	<p>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.</p> <p>Effectuer un cycle de décontamination U.V.</p> <p>Utiliser un nouveau tube de PCR Mix et/ou de CPE.</p>

15 LÉGENDE DES SYMBOLES

REF

Numéro de référence.



Limite supérieure de température.

LOT

Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).

IVD

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

UDI

Identifiant unique de dispositif



Contenu suffisant pour <> N >> tests.



Consulter le mode d'emploi.

CONT

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, 7381818, 7541454, 7671218, 7723038, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 et par les brevets EP numéros 1781675, 1789587, 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 ESBL 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 **ESBL 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 bêta-lactamases à spectre étendu **CTX-M-1**, **CTX-M-9**, **CTX-M-14** et **CTX-M-15*** d'*Enterobacteriaceae* dans des échantillons d'ADN extraits d'écouillons rectaux et d'hémoculture.

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'écouillons rectaux et d'hémoculture.

Le produit est destiné à être utilisé dans le diagnostic et le dépistage d'infections par les entérobactéries positives pour des gènes de bêta-lactamases à spectre étendu, 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 entérobactériacées positives pour des gènes de bêta-lactamases à spectre étendu dans des échantillons d'ADN extraits d'isolats 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 au chapitre « Caractéristiques de performance ».

Séquence amplifiée

Séquence	Gène	Fluorophore	Canal
CTX-M-1 et CTX-M-15	Bêta-lactamase à spectre étendu CTX-M-1 et CTX-M-15	AP593	CTX-M1-9-14-15
CTX-M-9 et CTX-M-14	Bêta-lactamase à spectre étendu CTX-M-9 et CTX-M-14	AP593	CTX-M1-9-14-15
Contrôle interne	séquence artificielle IC2	AP525	IC

Matrices validées

› Écouillon rectal prélevé avec le eNAT™ kit
› Écouillon rectal prélevé avec le FecalSwab™ kit
› Hémoculture

Contenu du kit et produits associés

ESBL ELITe MGB Kit (RTS201ING)	ESBL- ELITe Positive Control (CTR201ING)
 X 8	 X 3
ESBL PCR Mix 8 tubes de 280 µL 12 réactions par tube 96 réactions par kit 7 cycles de congélation/décongélation par tube	ESBL 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
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. › ELITe InGenius SP200 Consumable Set : INT032CS. › ELITe InGenius PCR Cassette : INT035PCR. › Conteneur à déchets ELITe InGenius : F2102-000. › 300 µL Filter Tips Axygen : TF-350-L-R-S. › 1 000 µL Filter Tips Tecan : 30180118.	› CPE - Internal Control : CTRCPE › eNAT™ kit (Copan, réf. 606CS01R), › FecalSwab™ (COPAN, réf. 470CE)
---	--

Protocole ELITe InGenius et ELITe BeGenius

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

Performances de ELITe InGenius et ELITe BeGenius

Matrice	Cible	limite de détection	Sensibilité	Spécificité
Écouvillon rectal	CTX-M-1	55	99,3 %	100 %
	CTX-M-9	29		
	CTX-M-14	273		
	CTX-M-15	36		
Hémoculture	CTX-M-1	55	100 %	95 %
	CTX-M-9	29		
	CTX-M-14	273		
	CTX-M-15	36		

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 :

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	> 6 mois
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. Les échantillons dilués dans un milieu eNAT™ peuvent être conservés comme indiqué dans le tableau ci-dessus. 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.

Procédures ELITe InGenius

L'interface graphique du logiciel ELITe InGenius guide l'utilisateur, étape par étape, pour paramétrier 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 « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : ESBL ELITe_RcS_200_100 ou ESBL 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 « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : ESBL ELITe_RcS_200_100 ou ESBL ELITe_BC_200_100 ou ESBL ELITe_PC ou ESBL ELITe_NC	5. Sélectionner la méthode « PCR Only » (PCR seulement) et la position de l'échantillon « Elution Tube » (Tube d'élution)	6. Charger le PCR Mix dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7. Charger : 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 du logiciel ELITe BeGenius® guide l'utilisateur, étape par étape, pour paramétrier 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 « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : ESBL ELITe_Be_RcS_200_100 ou ESBL ELITe_Be_BC_200_100 REMARQUE : si une deuxième extraction est exécutée, répéter les étapes 2 à 4	5. Imprimer les étiquettes à code-barres pour les apposer sur les tubes d'élution vides. Charger les tubes dans le « Elution Rack » (Rack de réactifs/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 l'Elution Rack (Rack d'élation), puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	3. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », Éluat : « 100 µL »
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : ESBL ELITe_Be_RcS_200_100 ou ESBL ELITe_Be_BC_200_100 ou ESBL ELITe_Be_PC ou ESBL ELITe_Be_NC	5. Charger le PCR Mix dans le Reagent/Elution Rack (Rack de réactifs/d'élation) 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