

NOTICE of CHANGE dated 01/09/2025

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«MDR/MTB ELITe MGB Kit» Ref. RTS120ING

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

- *Additional testing on negative sputum samples*
- *Verification of effectiveness in detecting new mutations identified in the *rpoB* and *katG* genes, associated respectively with resistance to Rifampicin and Isoniazid, in *Mycobacterium tuberculosis* samples.*
- *The messages for the results of the MTB complex detection and the analysis of MTB antibiotic resistance were aligned to the outputs of the current version of the assay protocol.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

	LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT
	THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT
	CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT
	LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT
	A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT
	DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Turin ITALIE

Bureaux : Tél. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76

11

E-mail : emd.support@elitechgroup.com

MDR/MTB ELITe MGB® Kit

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

REF RTS120ING



IVD



TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	page 1
PRINCIPES DU TEST	page 2
DESCRIPTION DU PRODUIT	page 2
MATÉRIEL FOURNI	page 3
MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	page 3
AUTRES PRODUITS REQUIS	page 3
AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	page 4
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	page 5
PROCÉDURE	page 7
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	page 15
BIBLIOGRAPHIE	page 28
LIMITES DE LA PROCÉDURE	page 29
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	page 30
LÉGENDE DES SYMBOLES	page 31
AVIS AUX UTILISATEURS	page 32
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	page 32

APPLICATION

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

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

Le produit peut être utilisé pour deux objectifs différents :

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

PRINCIPES DU TEST

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

DESCRIPTION DU PRODUIT

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

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

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

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

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

REF RTS120ING

- la région de point chaud de 81 pb du gène **rpoB**. La sonde (rpoB1) est marquée par le fluorophore AP639, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent,
- la région du codon 315 du gène **katG**. La sonde (katG) est marquée par le fluorophore FAM, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent,
- la région -15/-8 du promoteur du gène **inhA**. La sonde (inhA) est marquée par le fluorophore AP593, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent,
- la séquence artificielle **IC2** du contrôle interne. La sonde (IC) est marquée par le fluorophore AP680, stabilisée par le groupe MGB® et désactivée par un fragment non fluorescent.

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

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

MATÉRIEL FOURNI

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
TB1 PCR Mix	Mélange réactionnel complet Capuchon ROUGE	4 x 280 µL	-
TB2 PCR Mix	Mélange réactionnel complet Capuchon BLANC	4 x 280 µL	-

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.
- Agitateur de type vortex.
- Microcentrifugeuse de paillasse (12 000 - 14 000 tr/min).
- Micropipettes et cônes stériles avec filtre pour les aérosols ou à déplacement positif (2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1 000 µL).
- Eau de qualité biologie moléculaire.

AUTRES PRODUITS REQUIS

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

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

- paramètres pour le contrôle positif d'amplification « **MDR-MTB ELITe_PC** »,
- paramètres pour le contrôle négatif d'amplification « **MDR-MTB ELITe_NC** »,
- paramètres pour les échantillons à analyser « **MDR-MTB ELITe_SP_200_100** », « **MDR-MTB ELITe_BAL_200_100** », « **MDR-MTB ELITe_U_200_100** », « **MDR-MTB ELITe_CL_200_100** », « **MDR-MTB ELITe_B_200_100** », « **MDR-MTB ELITe_GA_200_100** ».

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

- cartouches d'extraction « **ELITe InGenius® SP 200** » (ELITechGroup S.p.A., réf. INT032SP200),
- consommables pour l'extraction et l'amplification « **ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set** » (ELITechGroup S.p.A, réf. INT032CS),
- cartouches d'amplification « **ELITe InGenius® PCR Cassette** » (ELITechGroup S.p.A, réf. INT035PCR),

- cônes « **300 µL Filter tips Axygen** » (Axygen BioScience Inc., CA, réf. TF-350-L-R-S),
- conteneurs « **ELITe InGenius® Waste Box** » (ELITechGroup S.p.A, réf. F2102-000).

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

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

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

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

Avertissements et précautions d'ordre général

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

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

Manipuler et mettre au rebut tous les échantillons biologiques comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Éviter tout contact direct avec les échantillons biologiques. Éviter de provoquer des éclaboussures ou des pulvérisations. Le matériel qui a été en contact avec les échantillons biologiques doit être traité en autoclave pendant une heure à 121 °C avant d'être mis au rebut.

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

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

Ne jamais pipeter les solutions avec la bouche.

Ne pas manger, 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 fournies avec le produit avant d'exécuter le test.

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

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

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

Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.

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

Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

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

Les échantillons doivent être adaptés et, si possible, dédiés à ce type d'analyse. Les échantillons inactivés doivent être manipulés sous une hotte à flux laminaire. Les pipettes utilisées pour manipuler les échantillons doivent être exclusivement utilisées à cette fin spécifique. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou 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 PCR Cassettes (Cassettes de PCR) doivent être manipulées de sorte à réduire au maximum la diffusion des produits d'amplification dans l'environnement, afin d'éviter toute contamination des échantillons et des réactifs.

Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Les mélanges **TB1 PCR Mix** et **TB2 PCR Mix** doivent être conservés à -20 °C dans l'obscurité.

Les mélanges **TB1 PCR Mix** et **TB2 PCR Mix** peuvent être congelés et décongelés **sept fois** au maximum : des cycles de congélation/décongélation supplémentaires risquent d'entraîner une réduction des performances du produit.

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

Ce produit doit être utilisé avec les échantillons cliniques suivants :

Échantillons d'expectorations

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

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

Remarque : pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons d'expectorations à l'aide de l'instrument **ELITE InGenius** et du logiciel **ELITE InGenius Software** version **1.3** (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **MDR-MTB ELITE_SP_200_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µL d'échantillon, l'ajout du **CPE - Internal Control** à 10 µL/extraction et l'élution des acides nucléiques dans 100 µL.

Lavage bronchoalvéolaire (LBA), aspirats bronchiques (AB)

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

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

Remarque : pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons de LBA/AB à l'aide de l'instrument **ELITE InGenius** et du logiciel **ELITE InGenius Software** version **1.3** (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **MDR-MTB ELITE_BAL_200_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µL d'échantillon, l'ajout du **CPE - Internal Control** à 10 µL/extraction et l'élution des acides nucléiques dans 100 µL.

Urine

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

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

Remarque : pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons d'urine à l'aide de l'instrument **ELITe InGenius** et du logiciel **ELITe InGenius Software** version **1.3** (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **MDR-MTB ELITe_U_200_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µL d'échantillon, l'ajout du CPE - Internal Control à 10 µL/extraction et l'élution des acides nucléiques dans 100 µL.

Liquides cavitaires

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

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

Remarque : pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons de liquides cavitaires à l'aide de l'instrument **ELITe InGenius** et du logiciel **ELITe InGenius Software** version **1.3** (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **MDR-MTB ELITe_CL_200_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µL d'échantillon, l'ajout du CPE - Internal Control à 10 µL/extraction et l'élution des acides nucléiques dans 100 µL.

Biopsies

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

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

Remarque : pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons de biopsies à l'aide de l'instrument **ELITe InGenius** et du logiciel **ELITe InGenius Software** version **1.3** (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **MDR-MTB ELITe_B_200_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µL d'échantillon, l'ajout du CPE - Internal Control à 10 µL/extraction et l'élution des acides nucléiques dans 100 µL.

Aspirats gastriques

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

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

Remarque : pour procéder à l'extraction de l'ADN des échantillons d'aspirats gastriques à l'aide de l'instrument **ELITe InGenius** et du logiciel **ELITe InGenius Software** version **1.3** (ou versions ultérieures), utiliser le protocole de test **MDR-MTB ELITe_GA_200_100**. Ce protocole comprend le traitement de 200 µL d'échantillon, l'ajout du CPE - Internal Control à 10 µL/extraction et l'élution des acides nucléiques dans 100 µL.

Substances interférentes

Les données disponibles relatives à l'inhibition provoquée par les médicaments et d'autres substances sont indiquées au paragraphe « Substances interférentes » du chapitre « Caractéristiques de performance ».

Contrôles d'amplification

Avant d'analyser un échantillon, il est absolument indispensable de générer et d'approuver les contrôles d'amplification pour le lot de réactifs d'amplification qui sera utilisé pendant le test :

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

Remarque : le système **ELITe InGenius** exige que les résultats des contrôles d'amplification soient approuvés et valides pour chaque lot de réactif d'amplification stocké dans sa base de données.

Les résultats des contrôles d'amplification, approuvés et stockés dans la base de données, expirent **au bout de 15 jours**. À la date d'expiration, il est nécessaire de réanalyser les contrôles positif et négatif en association avec le lot du réactif d'amplification.

En outre, les contrôles d'amplification doivent être réanalysés lorsque :

- un nouveau lot de réactifs d'amplification est utilisé,
- les résultats des contrôles de qualité (voir le paragraphe suivant) sont en dehors des spécifications,
- l'instrument **ELITe InGenius** subit une procédure de maintenance majeure.

Contrôles de qualité

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

PROCÉDURE

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

- Vérification de la préparation du système,
- Paramétrage de la session d'analyse,
- Examen et approbation des résultats.

Vérification de la préparation du système

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

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

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

Protocole de test pour le produit MDR/MTB ELITe MGB® Kit pour la détection de la tuberculose et l'identification de la résistance génotypique du complexe MTB			
Nom	Matrice	Rapport d'unité	Caractéristiques
MDR-MTB ELITe_SP_200_100	Expectorations	Positif/négatif/résistance positive/résistance négative	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
MDR-MTB ELITe_BAL_200_100	LBA/AB	Positif/négatif/résistance positive/résistance négative	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
MDR-MTB ELITe_U_200_100	Urine	Positif/négatif/résistance positive/résistance négative	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
MDR-MTB ELITe_CL_200_100	Liquides cavitaires	Positif/négatif/résistance positive/résistance négative	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
MDR-MTB ELITe_B_200_100	Biopsies	Positif/négatif/résistance positive/résistance négative	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
MDR-MTB ELITe_GA_200_100	Aspirats gastriques	Positif/négatif/résistance positive/résistance négative	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL

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

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

Paramétrage de la session d'analyse

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

- A. Analyse intégrée (« Extract + PCR » [Extraction + PCR]),
- B. Analyse d'amplification (« PCR Only » [PCR seulement]),
- C. Analyse d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif (PCR seulement).

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

Remarque : le système **ELITe InGenius** peut être connecté au « Laboratory Information Server » (serveur de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet d'envoyer les informations relatives à la session de travail. Se reporter au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Les principales étapes du paramétrage des trois types d'analyse sont décrites ci-dessous.

A. Analyse intégrée

Pour paramétrer une analyse intégrée avec une extraction et une amplification d'échantillon, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

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

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

2. Décongeler les tubes à essai de CPE pour la session. Chaque tube à essai permet d'effectuer 12 extractions. Mélanger délicatement puis centrifuger les tubes à essai pendant 5 secondes.
3. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
4. Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est défini à 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution extrait) est de 100 µL.
5. Pour chaque Track (Position) d'intérêt, renseigner le « SampleID » (SID) (ID échantillon) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
6. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (par ex. MDR-MTB ELITe_SP_200_100).
7. Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
8. Sélectionner la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position de l'échantillon) et sélectionner « Extraction Tube » (Tube d'extraction). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger le CPE, le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger et vérifier les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) dans la « Inventory Area » (Zone de stockage) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur le bouton « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
11. Charger les « PCR Cassettes » (Cassettes de PCR), les cartouches d'extraction « ELITe InGenius SP 200 », tous les consommables requis et les échantillons à extraire en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
12. Fermer le tiroir de l'instrument.
13. Appuyer sur « Start » (Début) pour lancer l'analyse.

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

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

Remarque : à la fin de l'analyse, les PCR Cassettes (Cassettes de PCR) contenant les produits de réaction et les autres consommables doivent être retirés de l'instrument et mis au rebut en évitant toute contamination environnementale. Éviter de renverser les produits de la réaction.

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

B. Analyse d'amplification

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

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

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

2. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
3. Même si aucune extraction ne sera réalisée, 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.
4. Pour chaque Track (Position) d'intérêt, renseigner le SID en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.
5. Sélectionner le protocole de test à utiliser dans la colonne « Assay » (Test) (par ex. MDR-MTB ELITe_SP_200_100).
6. Sélectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).
7. 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]). Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
8. Charger le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
9. Charger et vérifier les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) dans la « Inventory Area » (Zone de stockage) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger les « PCR Cassettes » et les échantillons d'acide nucléique extraits en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
11. Fermer le tiroir de l'instrument.
12. Appuyer sur « Start » (Début) pour lancer l'analyse.

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

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

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

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

C. Analyse d'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif

Pour paramétrer l'analyse d'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif, effectuer les étapes suivantes comme indiqué par la GUI :

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

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

2. Décongeler le tube TB Positive Control pour la session d'analyse. Chaque tube permet d'effectuer 2 sessions d'analyse. Mélanger délicatement et centrifuger le contenu des tubes pendant 5 secondes.
3. Transférer au minimum 100 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élution) inclus dans le « ELITe InGenius SP 200 Consumable Set ».
4. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
5. Même si aucune extraction ne sera réalisée, 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.
6. Dans la Track (Position) d'intérêt, sélectionner le protocole de test (Assay Protocol) à utiliser dans la colonne « Assay » (Test).
7. Pour le contrôle positif, sélectionner MDR-MTB ELITe_PC dans la colonne « Assay » (Test) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption du TB Positive Control.
8. Pour le contrôle négatif, sélectionner MDR-MTB ELITe_NC dans la colonne « Assay » (Test) et renseigner le numéro de lot et la date de péremption de l'eau de qualité biologie moléculaire.
9. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
10. Charger le TB1 PCR Mix et le TB2 PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) sélectionné en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le paramétrage.
11. Charger et vérifier les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) dans la « Inventory Area » (Zone de stockage) sélectionnée en suivant les instructions de la GUI. Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre le param

Examen et approbation des résultats

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

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

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

Le système **ELITE InGenius** génère les résultats obtenus avec le **MDR/**

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

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

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

Résultat d'une session sur l'échantillon	Interprétation
MTB:DNA détecté	L'ADN du complexe MTB a été détecté dans l'échantillon en une quantité suffisante pour exécuter l'analyse de la résistance aux antibiotiques (voir le tableau suivant).
MTB:DNA non détecté ou inférieur à LoD	L'ADN du complexe MTB n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif et valide ou la concentration cible est inférieure à la limite de détection (LoD) du test.
Invalid - Retest Sample (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon).	Résultat d'analyse non valide en raison de problèmes relatifs au contrôle interne (extraction incorrecte ou contamination par des inhibiteurs). Le test doit être répété.
Inconclusive - Retest Sample (Non concluant - Tester à nouveau l'échantillon)	Résultat d'analyse non déterminé en raison de problèmes relatifs à la détection du complexe MTB. Le test doit être répété.

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

Résultat d'une session sur l'échantillon	Interprétation
RIF:RESISTANCE NEGATIVE (Rés	

Lorsque le volume d'éluat est suffisant, l'échantillon extrait peut être à nouveau testé par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR seulement), en étant dilué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire. Lorsque le volume d'éluat est insuffisant, l'échantillon doit être dilué en procédant à l'extraction d'un nouvel échantillon en utilisant le mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) (se reporter à la section « PROBLÈMES ET SOLUTIONS »).

Les échantillons rapportés comme « Invalid - Retest Sample » (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon) par le **ELITe InGenius Software** ne sont pas appropriés pour l'interprétation des résultats. Dans ce cas, l'ADN du Contrôle interne n'a pas été efficacement détecté en raison de problèmes lors de l'étape d'amplification ou d'extraction (dégradation d'ADN, perte d'ADN pendant l'extraction ou contamination par des inhibiteurs dans l'éluat), ce qui peut générer des résultats incorrects (se reporter à la section « PROBLÈMES ET SOLUTIONS »).

Lorsque le volume d'éluat est suffisant, l'échantillon extrait peut être à nouveau testé par une analyse d'amplification

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

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

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Limite de détection (LoD)

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

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

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

En association avec les échantillons de liquide cavitaire, d'urine et de biopsie, la LoD a été vérifiée par une analyse de 20 rép

Efficacité de détection (inclusivité)

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

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

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

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

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

Marqueurs potentiellement interférents

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

Les régions sélectionnées pour l'hybridation

Répétabilité

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

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

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

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

Un résumé des résultats est présenté ci-dessous.

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

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

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

Expectorations : sensibilité et spécificité diagnostiques

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

La spécificité diagnostique du test, en tant que confirmation des échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en utilisant 52 échantillons cliniques d'expectorations négatifs pour le MTB testés en culture.

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

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

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

Parmi les échantillons négatifs pour le MTB, 52 échantillons se sont avérés être valides et 51 se sont avérés être négatifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Parmi les 52 échantillons valides, 51 échantillons se sont avérés être négatifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Il a été confirmé que le résultat positif discordant était positif après un deuxième test de l'échantillon d'expectorations. Dans ces tests, la spécificité diagnostique de l'analyse est de 98,1 %.

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

		Microscopie de frottis AFB		
		Pos.	Nég.	Total
MDR/MTB ELITE MGB Kit	Pos.	44	7	51
	Nég.	0	51	51
	Total	44	58	102

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

Parmi les échantillons négatifs pour le MTB, 58 échantillons se sont avérés être valides et 51 se sont avérés être négatifs à l'aide du produit MDR/MTB ELITE MGB® Kit. Il a été confirmé que six échantillons discordants sur 7 étaient positifs par les deux autres méthodes de référence (culture et test de diagnostic moléculaire portant

typer 2 échantillons en raison d'un faible signal du MTB ; ils ont par conséquent été exclus de l'analyse.
Dans ces tests, la sensibilité diagnostique de l'analyse de résistance aux antibiotiques est de 100 %.

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

La spécificité diagnostique du

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

REF RTS120ING

- 40 échantillons cliniques de LBA/AB dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène katG),
- 40 échantillons cliniques de LBA/AB dopés avec un isolat de MTB résistant à l'isoniazide (mutation dans le gène inhA).

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

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

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

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

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

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	Positifs
--------------	----------

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

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

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

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

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

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Réaction du Contrôle positif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de la session d'analyse.	Vérifier la position du PCR Mix et du contrôle positif. Vérifier le volume du PCR Mix et du contrôle positif.
Dégradation du contrôle positif.	Utiliser une nouvelle aliquote du contrôle positif.
Dégradation du PCR Mix.	Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.
Erreur de l'instrument.	Contactez l'assistance technique d'ELITechGroup.
Réaction du Contrôle négatif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de la session d'analyse.	Vérifier la position du PCR Mix et du contrôle négatif. Vérifier le volume du PCR Mix et du contrôle négatif.
Contamination du contrôle négatif	Utiliser une nouvelle aliquote d'eau de qualité biologie moléculaire.
Contamination du PCR Mix.	Utiliser de nouvelles aliquotes des PCR Mix.
Contamination de la zone d'extraction, des portoirs ou des blocs inventaire.	Nettoyer les surfaces avec des détergents aqueux, laver les blouses de laboratoire, remplacer les tubes à essai et les cônes utilisés.
Erreur de l'instrument.	Contactez l'assistance technique d'ELITechGroup.
Réaction de l'échantillon non valide	
Résultats non concluants/Typage non valide	

Erreur 30103	
Causes possibles	Solutions
Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon.	En cas d'observation d'une amplification significative sur la courbe de PCR : - sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat. Si une valeur Ct est requise : - répéter l'amplification avec une dilution à 1:10 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement), ou - répéter l'extraction avec une dilution à 1:10 de l'échantillon primaire, dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, au cours d'une session « Extract + PCR » (Extraction + PCR).

LÉGENDE DES SYMBOLES



Numéro de référence.



Limite supérieure de température.



Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.



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



Contenu suffisant pour « N » tests.



Consulter le mode d'emploi.



Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

AVIS AUX UTILISATEURS

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

Un « Résumé de la sécurité et des performances » sera mis à la disposition du public via la base de données européenne sur les dispositifs médicaux (Eudamed) lorsque ce système informatique sera fonctionnel. Avant la publication de l'avis de fonctionnalité complète d'Eudamed, le « Résumé de la sécurité et des performances » sera mis à la disposition du public sur demande par e-mail, à l'adresse emd.support@elitechgroup.com, dans les meilleurs délais.

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 Life Technologies Corporation. Le prix d'achat de ce produit inclut des droits, limités et non transférables, qui permettent d'utiliser uniquement cette quantité du produit dans le seul objectif de satisfaire aux activités de l'acheteur qui sont directement liées à la réalisation de tests diagnostiques chez l'homme. Pour obtenir des informations sur l'achat d'une licence relative à ce produit à des fins autres que celles mentionnées ci-dessus, contacter le Licensing Department, Thermo Fisher Scientific, 5781 Van Allen Way, Carlsbad, CA 92008. Téléphone : +1(760)603-7200. Fax : +1(760)602

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

Ref: RTS120ING



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

A. Intended use

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

The product may be used for two different purposes:

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

G. Performance

Sample	Matrix	Limit of Detection	Diagnostic Sensitivity	Diagnostic Specificity
MTB Complex	Sputum	6 CFU/mL	100% 50/50*	98.1% 51/52*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Sputum	-	100% 55/55*	100% 47/47*
MTB Complex	BAL/BA	6 CFU/mL	91.3% 42/46*	97.5% 39/40*
Rifampicin and Isoniazid resistance	BAL/BA	-	100% 119/119*	100% 119/119*
MTB Complex	Urine	20 CFU/mL	80% 16/20*	100% 20/20*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Urine	-	100% 60/60*	100% 60/60*
MTB Complex	Biopsy	20 CFU/mL	90.5% 38/42*	100% 40/40*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Biopsy	-	100% 120/120*	100% 120/120*
MTB Complex	Cavitary Liquid	20 CFU/mL	97.5% 39/40*	100% 40/40*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Cavitary Liquid	-	100% 120/120*	100% 120/120*
MTB Complex	Gastric aspirates	20 CFU/mL	81.8% 18/22*	100% 20/20*
Rifampicin and Isoniazid resistance	Gastric aspirates	-	100% 60/60*	100% 60/60*

*confirmed samples/ tested samples

H. Procedures

The user is guided step-by-step by the ELITE InGenius software to prepare the run. All the steps: extraction, amplification and result interpretation are automatically performed. Three operational mode are available: complete run, or extraction only, or PCR only.

Before analysis

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

