

Instructions for use

GI Bacterial PLUS ELITe MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN



REF RTS502ING

UDI 08033891487447

0123

IVD

HISTORIQUE DES MODIFICATIONS

Rév.	Avis de modification	Date (jj/mm/aa)
02	<p>Ajout d'une phrase d'interprétation relative à la cible Yen, permettant spécifiquement de différencier l'ADN de <i>Yersinia</i> de celui d'organismes potentiellement interférents (autres que <i>Y. enterocolitica</i>).</p> <p>Remplacement du tube de 2 mL 953-217 et du capuchon blanc 953-223 par le tube de 2 mL 953-065 associé aux tubes des composants du PCR Mix</p> <p>Extension à 60 jours du délai d'utilisation après la première ouverture</p> <p>Mise à jour du paragraphe « Bibliographie »</p> <p>Mise à jour de l'emballage du tube de PCR Mix (paragraphe « Matériel fourni »)</p> <p>Mise à jour du paragraphe « Matériel requis, mais non fourni »</p> <p>Mise à jour du paragraphe « Autres produits requis »</p> <p>Mise à jour du paragraphe « Avis aux utilisateurs »</p> <p>Mise à jour du paragraphe « Note pour l'acquéreur : licence limitée »</p>	14/10/25
01	<p>Mise à jour du paragraphe « Symboles » avec le symbole « Consulter le mode d'emploi »</p> <p>Mise à jour du code de référence de l'écouillon Minitip Flocked Swab</p> <p>Mise à jour des paragraphes 11.5 et 11.7 : inhibition</p> <p>Nouveaux graphiques et contenu du mode d'emploi.</p>	29/11/24
00	Nouveau développement de produit	13/05/24

NOTE!

La révision du présent mode d'emploi est également compatible avec la version précédente 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 ELITe InGenius	9
10 PROCÉDURE ELITe BeGenius	15
11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	20
12 BIBLIOGRAPHIE	37
13 LIMITES DE LA PROCÉDURE	37
14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS	38
15 LÉGENDE DES SYMBOLES	40
16 AVIS AUX UTILISATEURS	41
17 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	41
Appendix A QUICK START GUIDE	42

1 APPLICATION

Le produit **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test qualitatif de PCR en temps réel multiplexe des acides nucléiques pour la détection et l'identification de l'ADN génomique, extrait d'échantillons cliniques, de l'espèce *Campylobacter* (**Cam**), *Clostridium difficile* (également connue en tant que *Clostridioides difficile*, **Cdif**), y compris la discrimination du ribotype 027, l'espèce *Salmonella* (**Sal**), l'espèce *Shigella* (**Shi**) et *Yersinia enterocolitica* (**Yen**).

Le test est validé en association avec les instruments **ELITe InGenius®** et **ELITe BeGenius®**, des systèmes automatisés et intégrés pour l'extraction, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons de selles humaines.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic des infections bactériennes gastro-intestinales chez les patients suspectés de présenter une infection par l'espèce *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, l'espèce *Salmonella*, l'espèce *Shigella* et *Yersinia enterocolitica*.

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

Le produit n'est pas destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic de la fièvre entérique ou en tant qu'aide à l'identification de *Salmonella enterica* sérovar Typhi (également connue en tant que *Salmonella typhi*) pour l'évaluation du statut de porteur des patients.

2 PRINCIPE DU TEST

Le test est une PCR qualitative en temps réel qui détecte les ADN de l'espèce *Campylobacter*, *Clostridioides difficile*, y compris la discrimination du ribotype 027, l'espèce *Salmonella*, l'espèce *Shigella* et *Yersinia enterocolitica*, isolés à partir d'échantillons et amplifiés à l'aide du réactif du test, le **GI-B PCR Mix**, qui contient des amores et des sondes dotées de la technologie ELITe MGB.

Les sondes ELITe MGB sont activées lorsqu'elles s'hybrident aux produits de PCR associés. **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** surveillent l'augmentation de la fluorescence et calculent les cycles seuils (Ct) ainsi que les températures de fusion (Tm).

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

3 DESCRIPTION DU PRODUIT

L'échantillon **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** fournit le réactif du test, **GI-B PCR Mix** un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amores et les sondes spécifiques pour :

- le gène de l'**ARNr 16s** de l'espèce *Campylobacter*, détecté dans le Canal **Cam** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée par le colorant AquaPhluor® 639 (AP639),
- le gène **tcdB** de *Clostridioides difficile*, détecté dans le Canal **Cdif** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant FAM,
- le gène **invA** de l'espèce *Salmonella*, détecté dans le Canal **Sal** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor 690 (AP690),
- le gène **ipaH** de l'espèce *Shigella*, détecté dans le Canal **Shi** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor 593 (AP593),
- le gène **foxA** de *Yersinia enterocolitica*, détecté dans le Canal **Yen** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor 559 (AP559),
- le Contrôle interne (Internal Control) (**IC**), spécifique pour la séquence artificielle **IC2**, détecté dans le Canal **IC** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor 525 (AP525).

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

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

Le **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** peut également être utilisé en association avec des instruments équivalents.

4 MATÉRIEL FOURNI

Tableau 1

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
GI-B PCR Mix réf. RTS502ING	Mélange de réactifs pour la PCR en temps réel dans un tube doté d'un capuchon NATUREL	8 x 280 µL	-

5 MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.
- Agitateur de type vortex.
- Centrifugeuse de paillasse (~5 000 tr/min).
- Microcentrifugeuse de paillasse (~13 000 tr/min).
- Thermomixer.
- 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).
- Tubes stériles à capuchon vissant de 0,5 mL (Sarstedt, Allemagne, réf. 72.730.005).
- Eau de qualité biologie moléculaire.

6 AUTRES PRODUITS REQUIS

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

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

Tableau 2

Instruments et logiciels	Produits et réactifs
ELITe InGenius (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, réf. INT030). ELITe InGenius Software version 1.3.0.19 (ou versions ultérieures). GI Bacterial PLUS ELITe_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Positive Control GI Bacterial PLUS ELITe_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif. GI Bacterial PLUS ELITe_ST_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de selles.	GI Bacterial PLUS - ELITe Positive Control (EG SpA, réf. CTR502ING). CPE - Internal Control (EG SpA, réf. CTRCPE). ELITe InGenius SP200 (EG SpA, réf. INT032SP200). Consommables pour ELITe InGenius et ELITe BeGenius (se reporter au mode d'emploi des instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius)
ELITe BeGenius (EG SpA, réf. INT040). ELITe BeGenius Software version 2.3.0 (ou versions ultérieures). GI Bacterial PLUS ELITe_Be_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Positive Control. GI Bacterial PLUS ELITe_Be_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Negative Control. GI Bacterial PLUS ELITe_Be_ST_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de selles.	InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Allemagne, réf. 19593) ou dispositif équivalent. Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italie, réf. 501CS01) ou dispositif équivalent. FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italie, réf. 470CE) ou dispositif équivalent avec milieu Cary-Blair.

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 doivent être utilisées avec des cônes dotés d'un filtre pour les aérosols. Les cônes utilisés doivent être stériles, exempts de DNases et de RNases, et exempts d'ADN et d'ARN.

Les réactifs doivent être manipulés sous une hotte à flux laminaire. Les pipettes utilisées pour la manipulation des réactifs doivent être utilisées exclusivement à cette fin. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou doivent être utilisées avec des cônes dotés d'un filtre pour les aérosols. Les cônes utilisés doivent être stériles, exempts de DNases et de RNases, et exempts d'ADN et d'ARN.

Les produits d'extraction doivent être manipulés de manière à éviter leur dispersion dans l'environnement et à prévenir toute contamination de la zone de travail de l'instrument.

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

7.3 Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

Tableau 3

Composant	Température de stockage	Utilisation après la première ouverture	Cycles de congélation/décongélation	Stabilité à bord de l'instrument (ELITe InGenius et ELITe BeGenius)
GI-B PCR Mix	-20°C ou température plus basse (à l'abri de la lumière)	60 jours	jusqu'à sept	jusqu'à sept sessions d'analyse distinctes* de trois heures chacune ou jusqu'à 7 heures consécutives (2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse)

* avec congélation intermédiaire

8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

8.1 Échantillons

Ce produit est destiné à être utilisé sur les **ELITe InGenius** et **ELITe BeGenius** avec les échantillons cliniques suivants, identifiés et manipulés selon les directives du 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
Selles	collectées sans conservateurs	≤ 24 heures	≤ 48 heures	≤ 1 mois	≤ 2 mois
	collectées dans un milieu FecalSwab	≤ 48 heures	≤ 5 jours	≤ 1 mois	≤ 2 mois

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

Suivre les instructions ci-dessous pour le pré-traitement des échantillons.

Procédure de pré-traitement avec des selles natives collectées sans conservateurs :

1. transférer 1 mL de tampon InhibitEX Buffer dans un tube Sarstedt de 2 mL,
2. prélever l'échantillon de selles à l'aide d'un écouvillon Minitip Flocked Swab with 80mm Break (Copan) ; effectuer le prélèvement à différents endroits dans les selles et éliminer l'échantillon en excès en appuyant l'écouvillon contre la paroi du tube,
3. insérer l'écouvillon dans le tube Sarstedt de 2 mL contenant le tampon InhibitEX Buffer et le faire tourner au moins 10 fois, en l'appuyant contre la paroi du tube,
4. jeter l'écouvillon et fermer le capuchon du tube,
5. agiter au vortex pendant environ 60 s,
6. incuber dans un thermomixer à environ +80 °C et environ 800 tr/min pendant 10 minutes,
7. centrifuger à 10 000 tr/min pendant 15 s,
8. avec précaution, transférer 200 µL du surnageant de selles clarifié dans un tube d'extraction (pour l'instrument ELITe InGenius) ou dans un tube Sarstedt de 2 mL (pour l'instrument ELITe BeGenius) en veillant à ne pas perturber le culot de matière fécale.

Procédure de pré-traitement avec des selles collectées dans un milieu FecalSwab :

1. transférer 500 µL de tampon InhibitEX Buffer dans un tube Sarstedt de 2 mL,
2. transférer 500 µL d'échantillon en suspension depuis le milieu FecalSwab dans le tube Sarstedt de 2 mL contenant le tampon InhibitEX Buffer,
3. boucher fermement le tube et agiter au vortex pendant environ 60 s,
4. incuber dans un thermomixer à environ +80 °C et environ 800 tr/min pendant 10 minutes,
5. centrifuger à 10 000 tr/min pendant 15 s,
6. avec précaution, transférer 200 µL du surnageant de selles clarifié dans un tube d'extraction (pour l'instrument ELITe InGenius) ou dans un tube Sarstedt de 2 mL (pour l'instrument ELITe BeGenius) en veillant à ne pas perturber le culot de matière fécale.

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

Tableau 5 Protocoles de test pour le GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit

Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
Selles natives ou Selles collectées dans un milieu FecalSwab	ELITe InGenius	GI Bacterial PLUS ELITe_ST_200_100	Positif/ Négatif	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Contrôle Interne : 10 µL Sonication : NON Facteur de dilution : 1 Volume de PCR Mix : 20 µL Volume initial de PCR de l'échantillon : 20 µL
	ELITe BeGenius	GI Bacterial PLUS ELITe_Be_ST_200_100		

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

NOTE!

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

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

Se reporter au paragraphe « Substances potentiellement interférentes » de la section **11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE** page 20 pour vérifier les informations concernant les substances interférentes.

8.2 Contrôles de la PCR

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

- Pour le Positive Control, utiliser le produit **GI Bacterial PLUS - ELITe Positive Control** (non inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **GI Bacterial PLUS ELITe_PC** ou **GI Bacterial PLUS 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) **GI Bacterial PLUS ELITe_NC** ou **GI Bacterial PLUS 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 contrôles positif et négatif. 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 ELITe InGenius

La procédure d'utilisation du **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** avec le **ELITe InGenius** comporte trois étapes :

Tableau 6

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

9.1 ÉTAPE 1 - Vérification de la préparation du système

Avant de commencer la session d'analyse :

- mettre le **ELITe InGenius** en marche et se connecter en mode « **CLOSED** » (FERMÉ),
- dans le menu « **Controls** » (Contrôles) de la page Home (Accueil), vérifier que les contrôles de PCR (**GI-B Positive Control**, **GI-B Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **GI-B PCR Mix** à utiliser.

Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **GI-B 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 Assay Protocols (Protocoles de test) fournis par EG SpA (se reporter à la section « **Échantillons et contrôles** »).

Si le Assay Protocol (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 **GI Bacterial PLUS 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 Positive Control et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement]).

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

NOTE!

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

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

Tableau 7 Procédures avec le ELITe InGenius

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Positive Control et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante. Pré-traiter les échantillons conformément à la procédure décrite à la section « Échantillons et contrôles ». Pour ce test, 200 µL d'échantillon prétraité doivent être transférés 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	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
4	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 100 µL.
5	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.	Pour chaque échantillon, attribuer une « Track » (Position) et renseigner le « SampleID » (ID échantillon - SID) en le saisissant ou en scannant le code-barres de l'échantillon.	Non applicable
6	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « 8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES page 7 »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « 8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES page 7 »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « 8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES page 7 »). Saisir le numéro de lot et la date de péremption du Positive Control et de l'eau de qualité biologie moléculaire.
7	Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner « PCR Only » (PCR seulement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).	Vérifier que « PCR Only » (PCR seulement) est sélectionné dans la colonne « Protocol » (Protocole).
8	Sélectionner la position de chargement de l'échantillon en tant que « Extraction Tube » (Tube d'extraction) dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons).	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'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 Procédures avec le ELITe InGenius (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Positive Control et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
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 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 (Cassette de PCR) et les tubes de Positive Control et 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 heures (2 sessions d'analyse de 3 heures chacune plus la durée nécessaire au paramétrage d'une troisième session d'analyse). Mélanger délicatement et centrifuger le contenu pendant 5 secondes avant de commencer la session d'analyse suivante.

NOTE!

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

NOTE!

Le **GI-B 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

Le **ELITe InGenius** surveille les signaux de fluorescence de la cible et du contrôle interne pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du Assay Protocol (Protocole de test) 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 **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

1. Validation des résultats du Positive Control et du Negative Control,
2. Validation des résultats de l'échantillon,
3. Rapport des résultats de l'échantillon.

9.3.1 Validation des résultats du Positive Control et du Negative Control d'amplification

Le **ELITe InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour les cibles des réactions du Positive Control et du Negative Control avec les paramètres de protocoles de test (Assay Protocols) **GI Bacterial PLUS ELITe_PC** et **GI Bacterial PLUS ELITe_NC**. Les valeurs Ct et de Tm résultantes sont utilisées pour vérifier le système (lot 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]). Elles peuvent être visualisées et approuvées 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 **ELITe InGenius Software** 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 le 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 du Negative Control doivent être répétées.

NOTE!

Si le résultat du Positive Control ou du 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.

9.3.2 Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELITe InGenius Software** interprète les résultats de la PCR pour les cibles (canaux **Cam**, **Cdif**, **Sal**, **Shi** et **Yen**) et le Contrôle interne (Internal Control) (Canal **IC**) avec les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) **GI Bacterial PLUS ELITe_ST_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
GI-B Positive Control	APPROUVÉ
2) Negative Control	Statut
GI-B Negative Control	APPROUVÉ

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

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

Tableau 9

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
Cam:DNA Detected (Cam:ADN Détecté).	L'ADN de l'espèce <i>Campylobacter</i> a été détecté dans l'échantillon.
Cdif:DNA Detected (Cdif:ADN Détecté).	L'ADN de <i>Clostridioides difficile</i> a été détecté dans l'échantillon.
Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027 (Cdif:ADN Détecté Possible Ribotype 027)	L'ADN de <i>Clostridioides difficile</i>, possible ribotype 027, a été détecté dans l'échantillon.
Sal:DNA Detected (Sal:ADN Détecté).	L'ADN de l'espèce <i>Salmonella</i> a été détecté dans l'échantillon.
Shi:DNA Detected (Shi:ADN Détecté).	L'ADN de l'espèce <i>Shigella</i> a été détecté dans l'échantillon.
Yen:DNA Detected Yenterocolitica (Yen:ADN Détecté Yenterocolitica).	L'ADN de <i>Yersinia enterocolitica</i> a été détecté dans l'échantillon.
Yen:DNA Detected species not determined (Yen:ADN Détecté espèce non déterminée)	L'ADN d'une espèce <i>Yersinia</i> (autre que <i>Y. enterocolitica</i>) a été détecté dans l'échantillon. La présence de <i>Y. enterocolitica</i> à un faible nombre de copies ne peut être exclue.
Cam:DNA Not detected or below the LoD (Cam:ADN Non détecté ou inférieur à LoD).	L'ADN de l'espèce <i>Campylobacter</i> n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de l'espèce <i>Campylobacter</i> ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Cdif:DNA Not detected or below the LoD (Cdif:ADN Non détecté ou inférieur à LoD)	L'ADN de <i>Clostridioides difficile</i> n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de <i>Clostridioides difficile</i> ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Sal:DNA Not detected or below the LoD (Sal:ADN Non détecté ou inférieur à LoD)	L'ADN de l'espèce <i>Salmonella</i> n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de l'espèce <i>Salmonella</i> ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Shi:DNA Not detected or below the LoD (Shi:ADN Non détecté ou inférieur à LoD).	L'ADN de l'espèce <i>Shigella</i> n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de l'espèce <i>Shigella</i> ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.

Tableau 9 (continued)

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
Yen:DNA Not detected or below the LoD (Yen:ADN Non détecté ou inférieur à LoD)	L'ADN de <i>Yersinia enterocolitica</i> n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de <i>Yersinia enterocolitica</i> ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Invalid-Retest Sample (Non valide-Tester à nouveau l'échantillon)	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Contrôle interne (en raison, par exemple, d'une extraction incorrecte, d'un transfert d'inhibiteurs). Le test doit être répété.

Échantillons rapportés comme « Invalid-Retest Sample » (Non valide-Tester à nouveau l'échantillon) :dans ce cas, l'ADN du Contrôle Interne n'a pas été efficacement détecté, ce qui peut être dû à des problèmes lors des étapes de prélèvement de l'échantillon, de prétraitement, d'extraction ou de PCR (par ex. échantillonnage incorrect, dégradation ou perte d'ADN pendant l'extraction ou inhibiteurs dans l'éluat), ce qui peut générer des résultats incorrects.

S'il reste un volume d'éluat suffisant, l'éluat peut être à nouveau testé (pur ou dilué), par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR seulement). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'un nouvel échantillon en utilisant le mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) (se reporter à la section « [14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS page 38](#) »).

Les échantillons rapportés comme « Yen:DNA Detected species not determined » (Yen:ADN DéTECTé espèce non déterminée) sont appropriés pour l'analyse et l'ADN d'une espèce *Yersinia* (autre que *Y. enterocolitica*) a été détecté dans l'échantillon. Dans ce cas de figure, la présence de *Y. enterocolitica* à une faible concentration ne peut pas être exclue.

Les échantillons rapportés comme « Xxx:DNA Not Detected or below the LoD » (Xxx:ADN Non détecté ou inférieur à LoD) sont appropriés pour l'analyse, mais il n'a pas été possible de détecter l'ADN des cibles. Dans ce cas, l'échantillon peut être négatif pour l'ADN des cibles ou l'ADN des cibles est présent à une concentration inférieure à la limite de détection du test (se reporter à la section « [11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 20](#) »).

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 (Results Display [Affichage des résultats]) par des utilisateurs « Administrator » (Administrateur) ou « Analyst » (Analyste) en suivant les instructions de la GUI. Dans la fenêtre « Results Display » (Affichage des résultats), il est possible d'imprimer et d'enregistrer les résultats de l'analyse des échantillons sous forme de « Sample Report » (Rapport échantillons) et « Track Report » (Rapport des positions).

9.3.3 Rapport des résultats de l'échantillon

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

10 PROCÉDURE ELITe BeGenius

La procédure d'utilisation du **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** avec le **ELITe BeGenius** comporte trois étapes :

Tableau 10

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

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 (**GI-B Positive Control**, **GI-B 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 **GI-B 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 Assay Protocols (Protocoles de test) fournis par EG SpA (se reporter à la section « [8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES page 7](#) »).

Si le Assay Protocol (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 **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITe BeGenius** pour effectuer les opérations suivantes :

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

Décongeler les tubes de **GI-B 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 paramétrier l'un des trois types d'analyse, suivre les étapes ci-dessous tout en se reportant à la GUI :

Tableau 11 Procédures avec le ELITe BeGenius

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Positive Control et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
1	<p>Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante. Pré-traiter les échantillons conformément à la procédure décrite à la section « Échantillons et contrôles ». Pour ce test, 200 µL d'échantillon prétraité doivent être transférés dans un tube Sarstedt de 2 mL préalablement étiqueté.</p>	<p>Si nécessaire, décongeler les tubes d'élution contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.</p>	<p>Décongeler les tubes de Positive Control à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer 4 réactions. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.</p>
2	<p>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.</p>	<p>Non applicable</p>	<p>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.</p>
3	<p>Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).</p>	<p>Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil)</p>	<p>Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).</p>
4	<p>Retirer tous les « Racks » de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.</p>	<p>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.</p>	<p>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.</p>
5	<p>Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).</p>	<p>Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).</p>	<p>Sélectionner le « Run mode » (run mode) : « PCR Only » (PCR seulement).</p>
6	<p>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).</p>	<p>Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Rack d'élution).</p>	<p>Charger les tubes de Positive Control et Negative Control dans le « Elution Rack » (Rack d'élution).</p>
7	<p>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]).</p>	<p>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) (volume d'éluat) et le « Internal Control » (Contrôle interne).</p>	<p>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).</p>
8	<p>Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.</p>	<p>Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.</p>	<p>Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.</p>

Tableau 11 Procédures avec le ELITe BeGenius (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Positive Control et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
9	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élution de l'extraction) est de 100 µL.	Non applicable	Non applicable
10	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « 8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES page 7 »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « 8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES page 7 »).	Sélectionner le Assay Protocol (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « 8 ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES page 7 »).
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.		-
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).
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.

Tableau 11 Procédures avec le ELITe BeGenius (continued)

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Positive Control et du Negative Control (PCR Only [PCR seulement])
20	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).	Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone de Stockage).
21	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
22	Charger le « Extraction Rack » (Rack d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITe InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis.	Non applicable	Non applicable
23	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
24	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).	Appuyer sur « Start » (Début).

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

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

NOTE!

Le **GI-B 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

Le **ELITe BeGenius** surveille les signaux de fluorescence de la cible et du contrôle interne pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du Assay Protocol (Protocole de test) 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 **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

1. Validation des résultats du Positive Control et du Negative Control,
2. Validation des résultats de l'échantillon,
3. Rapport des résultats de l'échantillon.

NOTE!

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

11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

11.1 Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du test a été déterminée pour les instruments ELITe BeGenius et ELITe InGenius en testant des échantillons de selles natives dopés avec un matériel de référence de *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* et *Yersinia enterocolitica* (DSMZ et ZeptoMetrix).

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

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 12 Limite de détection

Agent pathogène	LoD	Limites de l'intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
<i>Campylobacter jejuni</i>	72 UFC/mL	56 UFC/mL	115 UFC/mL
<i>Clostridioides difficile</i>	172 UFC/mL	129 UFC/mL	273 UFC/mL
<i>Salmonella enterica</i>	372 UFC/mL	268 UFC/mL	615 UFC/mL
<i>Shigella flexneri</i>	337 UFC/mL	239 UFC/mL	573 UFC/mL
<i>Yersinia enterocolitica</i>	363 UFC/mL	255 UFC/mL	637 UFC/mL

La valeur de LoD calculée a été vérifiée sur les ELITe BeGenius et ELITe InGenius en testant des échantillons de selles natives et des échantillons de selles collectés dans un milieu FecalSwab dopés avec un matériel de référence de *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* et *Yersinia enterocolitica* à la concentration revendiquée.

Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour toutes les cibles du GI Bacterial PLUS MGB Kit avec les deux matrices sur les ELITe BeGenius et ELITe InGenius.

11.2 Inclusivité : efficacité de détection de différentes souches ou isolats

L'inclusivité du test, en tant qu'efficacité de détection de différentes souches ou isolats de l'espèce *Campylobacter*, *Clostridium difficile*, l'espèce *Salmonella*, l'espèce *Shigella* et *Yersinia enterocolitica*, a été évaluée par une analyse *in silico*. L'analyse a montré une conservation des séquences et une absence de mutations significatives. En conséquence, on s'attend à ce que les différentes souches ou isolats soient efficacement détectés.

L'inclusivité a également été vérifiée par l'analyse de 15 matériaux de référence de cultures bactériennes provenant de différents fournisseurs (DSMZ et ZeptoMetrix).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 13 Résultats du test d'inclusivité

Échantillon	Pos./rép.	Résultat
<i>Campylobacter jejuni</i>	6/6	Cam:DNA Detected (Cam : ADN détecté)
<i>Campylobacter coli</i>	6/6	Cam:DNA Detected (Cam : ADN détecté)
<i>Campylobacter lari</i>	6/6	Cam:DNA Detected (Cam : ADN détecté)
<i>C. difficile</i> 002	6/6	Cdif:DNA Detected (Cdif : ADN détecté)
<i>C. difficile</i> 078	6/6	Cdif:DNA Detected (Cdif : ADN détecté)
<i>C. difficile</i> 017	6/6	Cdif:DNA Detected (Cdif : ADN détecté)
<i>C. difficile</i> 027-1	6/6	Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027 (Cdif : ADN détecté, possible ribotype 027)
<i>C. difficile</i> 027-2	6/6	Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027 (Cdif : ADN détecté, possible ribotype 027)
<i>Salmonella enterica</i>	6/6	Sal:DNA Detected (Sal : ADN détecté)
<i>Salmonella bongori</i>	6/6	Sal:DNA Detected (Sal : ADN détecté)
<i>Shigella flexneri</i>	6/6	Shi:DNA Detected (Shi : ADN détecté)
<i>Shigella boydii</i>	6/6	Shi:DNA Detected (Shi : ADN détecté)
<i>Shigella sonnei</i>	6/6	Shi:DNA Detected (Shi : ADN détecté)
<i>Yersinia enterocolitica</i> sous-espèce <i>enterocolitica</i>	6/6	Yen:DNA Detected <i>Yenterocolitica</i> (Yen : ADN de <i>Y. enterocolitica</i> détecté)
<i>Yersinia enterocolitica</i> sous-espèce <i>palearctica</i>	6/6	Yen:DNA Detected <i>Yenterocolitica</i> (Yen : ADN de <i>Y. enterocolitica</i> détecté)

Tous les échantillons ont été correctement détectés par le GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit.

11.3 Interférence entre les cibles

L'interférence potentielle entre les cibles du test a été évaluée par un test de co-amplification de *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* et *Yersinia enterocolitica* (DSMZ et ZeptoMetrix).

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

Tableau 14 Résultats du test d'interférence entre les cibles

Cible testée (faible nombre de copies)	Cible interférente à 2 500 000 UFC/mL				
	Campylobacter	C. difficile	Salmonella	Shigella	Yersinia
<i>Campylobacter</i>	-	5 000 UFC/mL	5 000 UFC/mL	5 000 UFC/mL	2 500 UFC/mL
<i>C. difficile</i>	2 500 UFC/mL	-	2 500 UFC/mL	5 000 UFC/mL	2 500 UFC/mL
<i>Salmonella</i>	2 500 UFC/mL	5 000 UFC/mL	-	5 000 UFC/mL	2 500 UFC/mL
<i>Shigella</i>	2 500 UFC/mL	2 500 UFC/mL	2 500 UFC/mL	-	2 500 UFC/mL
<i>Yersinia</i>	2 500 UFC/mL	2 500 UFC/mL	2 500 UFC/mL	2 500 UFC/mL	-

Le GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit montre une interférence minimale entre les cibles. Toutes les cibles peuvent être détectées même si elles sont environ 1000 fois moins nombreuses que les autres agents pathogènes d'intérêt.

11.4 Organismes potentiellement interférents : réactivité croisée

La réactivité croisée potentielle d'organismes non souhaitables qui peuvent être présents dans des échantillons de selles cliniques a été évaluée par une analyse *in silico*. L'analyse a montré une absence d'homologie significative avec la plupart des organismes non souhaitables (virus, bactéries, protozoaires et champignons) et, par conséquent, aucune réactivité croisée n'est attendue, excepté pour les *Escherichia coli* entéro-invasifs (EIEC) et certaines espèces *Yersinia*. La région amplifiée du gène ipaH, la cible pour l'espèce *Shigella*, est en fait partagée avec les *Escherichia coli* entéro-invasifs (EIEC), qui sont génétiquement apparentés à *Shigella* et sont détectés par ce produit comme positifs pour *Shigella*. De plus, certaines homologies ont été observées dans le gène foxA utilisé pour la détection de *Yersinia enterocolitica* avec d'autres espèces de *Yersinia*, notamment *Yersinia frederiksenii*, *Yersinia intermedia*, *Yersinia mollenkampii* et *Yersinia kristensenii*.

L'absence de réactivité croisée avec des organismes potentiellement interférents a également été vérifiée par l'analyse d'un panel d'organismes non souhaitables (ATCC, ZeptoMetrix, DSMZ et ADN plasmidiques).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 15 Résultats du test de réactivité croisée avec des organismes

Organisme	Positifs/Réplicats						Résultat
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Bacteroides fragilis</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Vibrio cholerae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Helicobacter pylori</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Escherichia coli</i> 92.0147	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Serratia marcescens</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée

Tableau 15 Résultats du test de réactivité croisée avec des organismes (continued)

Organisme	Positifs/Réplicats						Résultat
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Candida albicans</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Citrobacter freundii</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Clostridium nexile</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Proteus mirabilis</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Enterobacter cloacae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Giardia lamblia</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Entamoeba histolytica</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Entérovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Adénovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Astrovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Norovirus G1	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Rotavirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Sapovirus	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Clostridium disporicum</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Yersinia frederiksenii</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée*
<i>Yersinia intermedia</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée*
<i>Yersinia mollaretii</i>	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée*
<i>Yersinia kristensenii</i> (souche CDC 1459-81)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Yersinia kristensenii</i> (souche 2012N-4030)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée*

Tous les organismes potentiellement interférents testés n'ont montré aucune réactivité croisée pour l'amplification des cibles en utilisant le GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit.

Certaines espèces *Yersinia* (*) étaient positives pour la cible Yen. Cependant, en raison de la différence de température de fusion (Tm) entre *Y. enterocolitica* et d'autres espèces *Yersinia*, le protocole de test génère le résultat « Yen:DNA Detected species not determined » (Yen:ADN détecté, espèce indéterminée).

11.5 Organismes potentiellement interférents : inhibition

L'inhibition potentielle du test par des organismes non souhaitables qui peuvent être présents dans des échantillons de selles cliniques a été évaluée par l'analyse d'un panel d'organismes non souhaitables (ATCC, ZeptoMetrix et DSMZ) dopés avec *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* et *Yersinia enterocolitica* (DSMZ et ZeptoMetrix).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 16 Résultats du test d'inhibition avec des organismes

Organisme	Positifs/Réplicats						Résultat
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Aeromonas hydrophila</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Bacteroides fragilis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Vibrio cholerae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Helicobacter pylori</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Escherichia coli</i> 92.0147	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Serratia marcescens</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Acinetobacter baumannii</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Candida albicans</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Citrobacter freundii</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Clostridium nexile</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Proteus mirabilis</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Enterobacter cloacae</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Giardia lamblia</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Cryptosporidium parvum</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Entamoeba histolytica</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Entérovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Adénovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Astrovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Norovirus G1	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Rotavirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Sapovirus	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Clostridium disporicum</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
<i>Yersinia frederiksenii</i>	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	5/5	Inhibition pour la cible Yen
<i>Yersinia intermedia</i>	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	5/5	Inhibition pour la cible Yen
<i>Yersinia mollaretii</i>	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	5/5	Inhibition pour la cible Yen

Tableau 16 Résultats du test d'inhibition avec des organismes (continued)

Organisme	Positifs/Réplicats						Résultat
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
<i>Yersinia kristensenii</i> (souche CDC 1459-81)	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	5/5	Inhibition pour la cible Yen
<i>Yersinia kristensenii</i> (souche 2012N-4030)	5/5	5/5	0/5	5/5	5/5	5/5	Inhibition pour la cible Yen

La plupart des organismes potentiellement interférents testés n'ont montré aucune inhibition de l'amplification des cibles en utilisant le GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit. Une inhibition a été observée lors de tests de co-amplification avec *Y. enterocolitica* à de faibles concentrations et des concentrations élevées de *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. mollaertii* et *Y. kristensenii*.

Dans ce cas de figure, même si *Y. enterocolitica* est présente à de faibles concentrations, le protocole de test génère le résultat « Yen: DNA Detected species not determined » (Yen:ADN détecté, espèce indéterminée).

11.6 Substances potentiellement interférentes : réactivité croisée

La réactivité croisée exercée par des substances potentiellement interférentes (endogènes et exogènes) qui peuvent être observées dans des échantillons de selles a été évaluée pour le test par l'analyse d'un panel de substances à une concentration pertinente.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 17 Résultats du test de réactivité croisée avec des substances

Substance	Positifs/Réplicats						Résultat
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Huile de vaseline	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Nonoxynol-9	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Sous-salicylate de bismuth	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Chlorhydrate de lopéramide	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Bisacodyl	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Azithromycine	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Vancomycine	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Métronidazole	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Ampicilline	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Céfpodoxime	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Ciprofloxacine	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Hydrocortisone	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Carbonate de calcium	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Acide alginique	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Hydroxyde d'aluminium	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Trisilicate de magnésium	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée

Tableau 17 Résultats du test de réactivité croisée avec des substances (continued)

Substance	Positifs/Réplicats						Résultat
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Sang total	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Mucine	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Acide palmitique	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Acide stéarique	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée

Le test a montré que toutes les substances testées n'exercent aucune réaction croisée avec les cibles en utilisant le GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit.

11.7 Substances potentiellement interférentes : inhibition

L'inhibition potentielle du test par des substances potentiellement interférentes (endogènes et exogènes) qui peuvent être observées dans des échantillons de selles cliniques a été évaluée par l'analyse d'un panel de substances à une concentration pertinente dans des échantillons dopés avec *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* et *Yersinia enterocolitica* (DSMZ et ZeptoMetrix).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 18 Résultats du test d'inhibition avec des substances

Substance	Positifs/Réplicats						Résultat
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Huile de vaseline	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Nonoxynol-9	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Sous-salicylate de bismuth	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Chlorhydrate de lopéramide	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Bisacodyl	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Azithromycine	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Vancomycine	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Métronidazole	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Ampicilline	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Céfpodoxime	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Ciprofloxacine	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Hydrocortisone	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Carbonate de calcium	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Acide alginique	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Hydroxyde d'aluminium	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Trisilicate de magnésium	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Sang total	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition

Tableau 18 Résultats du test d'inhibition avec des substances (continued)

Substance	Positifs/Réplicats						Résultat
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Mucine	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Acide palmitique	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition
Acide stéarique	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune inhibition

Le test a montré que les substances testées n'inhibent pas la détection des cibles en utilisant le GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit.

11.8 Contamination croisée

L'éventuelle contamination croisée pendant l'analyse a été évaluée pour le test en testant 60 réplicats d'un échantillon de selles négatif en alternance avec 60 réplicats du même échantillon dopé avec *Campylobacter jejuni* (DSMZ) à une concentration de 1 000 000 UFC/mL dans 5 sessions d'analyse.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 19 Résultats du test de contamination croisée

Échantillons	N	Positifs	Négatifs	Concordance (%)
Positif	60	60	0	100 %
Négatif	60	0	60	100 %

Dans ce test avec le GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit, aucune contamination croisée n'a été détectée (intra-session et inter-sessions).

11.9 Défaillance de l'ensemble du système

Le taux de défaillance de l'ensemble du système pour le test a été évalué en analysant 50 échantillons de selles natives négatifs différents et 30 échantillons de selles collectés dans un milieu FecalSwab et dopés avec *Campylobacter jejuni* (DSMZ) à une concentration de 3 x la LoD (216 UFC/mL).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 20 Résultats du test du taux de défaillance de l'ensemble du système

Échantillons	N	Positifs	Négatifs	Taux de défaillance de l'ensemble du système
Selles natives dopées à 3 x la LoD	50	49	1	2 %
Selles dans un milieu FecalSwab dopées à 3 x la LoD	30	30	0	0 %

Dans ce test avec le GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit, 98 % des échantillons de selles natives et 100 % des échantillons de selles collectés dans un milieu FecalSwab ont été confirmés comme positifs. Dans ce test, le taux de défaillance de l'ensemble du système était de 2 % pour les échantillons de selles natives et de 0 % pour les échantillons de selles collectés dans un milieu FecalSwab.

11.10 Répétabilité

Le répétabilité du test a été évaluée sur les ELITe BeGenius et ELITe InGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de selles natives qui étaient négatifs ou avaient été dopés avec *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* et *Yersinia enterocolitica* (DSMZ et ZeptoMetrix).

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

Tableau 21 Exemple des résultats du test de la répétabilité intra-session (BeGenius, sur un seul jour)

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Cdif (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		6	35,30	0,55	1,55	100 %
		6	58,8	0,19	0,32	100 %
Nég	Cam (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		6	32,01	0,39	1,20	100 %
3 x la LoD SS		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Nég	Yen (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		6	35,28	0,46	1,30	100 %
3 x la LoD SS		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Nég	Sal (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		6	35,95	1,19	3,31	100 %
3 x la LoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Nég	Shi (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		6	35,41	0,24	0,67	100 %
3 x la LoD Cdif		6	-	-	-	100 %

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

Tableau 22 Exemple des résultats du test de la répétabilité intra-session (InGenius, sur un seul jour)

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Cdif (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		6	34,81	0,25	0,71	100 %
	Cdif (Tm)	6	60,0	0,16	0,27	100 %
Nég	Cam (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		6	31,34	0,11	0,34	100 %
3 x la LoD SS		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Nég	Yen (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		6	35,71	0,30	0,85	100 %
3 x la LoD SS		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Nég	Sal (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		6	35,51	0,59	1,65	100 %
3 x la LoD Cdif		6	-	-	-	100 %
Nég	Shi (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		6	33,49	0,96	2,87	100 %
3 x la LoD Cdif		6	-	-	-	100 %

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

Tableau 23 Exemple des résultats du test de la répétabilité inter-sessions (BeGenius, sur deux jours)

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Cdif (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		12	35,22	0,21	0,60	100 %
Nég	Cam (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		12	32,59	0,38	1,15	100 %
3 x la LoD SS		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Nég	Yen (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		12	34,88	0,40	1,15	100 %
3 x la LoD SS		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Nég	Sal (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		12	35,69	0,93	2,61	100 %
3 x la LoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Nég	Shi (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		12	34,47	1,01	2,94	100 %
3 x la LoD Cdif		12	-	-	-	100 %

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

Tableau 24 Exemple des résultats du test de la répétabilité inter-sessions (InGenius, sur deux jours)

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Cdif (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		12	34,81	0,22	0,63	100 %
	Cdif (Tm)	12	60,0	0,20	0,33	100 %
Nég	Cam (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		12	31,35	0,13	0,42	100 %
3 x la LoD SS		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Nég	Yen (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		12	35,79	0,31	0,87	100 %
3 x la LoD SS		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Nég	Sal (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		12	35,52	0,63	1,78	100 %
3 x la LoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Nég	Shi (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		12	33,61	0,79	2,35	100 %
3 x la LoD Cdif		12	-	-	-	100 %

Dans le test de répétabilité, le GI Bacterial PLUS 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 3,31 %.

11.11 Reproductibilité

Le reproductibilité du test a été évaluée sur les ELITe BeGenius et ELITe InGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons de selles natives qui étaient négatifs ou avaient été dopés avec *Campylobacter jejuni*, *Clostridioides difficile*, *Salmonella enterica*, *Shigella flexneri* et *Yersinia enterocolitica* (DSMZ et ZeptoMetrix).

Les résultats de la reproductibilité inter-lots (sur six jours et avec trois lots) sur le ELITe BeGenius sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 25 Résultats du test de la reproductibilité inter-lots (BeGenius, sur six jours et avec trois lots)

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		36	35,08	0,35	1,01	100 %
	Cdif (Tm)	36	59,2	0,33	0,56	100 %
Nég	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	31,92	0,60	1,87	100 %
3 x la LoD SS		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	34,94	0,47	1,35	100 %
3 x la LoD SS		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		36	35,71	0,85	2,37	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		36	34,61	0,82	2,38	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %

Les résultats de la reproductibilité inter-lots (sur six jours et avec trois lots) sur le ELITe InGenius sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 26 Résultats du test de la reproductibilité inter-lots (InGenius, sur six jours et avec trois lots)

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		36	34,83	0,32	0,92	100 %
	Cdif (Tm)	36	59,8	0,27	0,45	100 %
Nég	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	31,75	0,66	2,07	100 %
3 x la LoD SS		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	35,73	0,39	1,10	100 %
3 x la LoD SS		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		36	35,46	0,54	1,51	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		36	33,99	0,80	2,36	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %

Les résultats de la reproductibilité inter-instruments (sur six jours, avec trois lots et trois instruments) sur le ELITe BeGenius sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 27 Résultats du test de la reproductibilité inter-instruments (BeGenius, sur six jours, avec trois lots et trois instruments)

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		36	34,97	0,33	0,95	100 %
	Cdif (Tm)	36	59,1	0,28	0,48	100 %
Nég	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	32,29	0,44	1,36	100 %
3 x la LoD SS		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	35,91	0,59	1,64	100 %
3 x la LoD SS		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		36	36,05	0,81	2,24	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		36	34,75	1,29	3,71	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %

Les résultats de la reproductibilité inter-instruments (sur six jours, avec trois lots et trois instruments) sur le ELITe InGenius sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 28 Résultats du test de la reproductibilité inter-instruments (InGenius, sur six jours, avec trois lots et trois instruments)

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		36	34,68	0,37	1,06	100 %
	Cdif (Tm)	36	59,9	0,26	0,44	100 %
Nég	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	31,82	0,38	1,18	100 %
3 x la LoD SS		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	35,67	0,97	2,71	100 %
3 x la LoD SS		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		36	36,19	1,49	4,11	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD CY		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD SS		36	34,46	0,76	2,21	100 %
3 x la LoD Cdif		36	-	-	-	100 %

Dans le test de reproductibilité, le GI Bacterial PLUS 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 4,11 %.

11.12 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 cliniques de selles collectées sans conservateurs ou dans un milieu Cary-Blair modifié, certifiés négatifs ou présumés négatifs pour chaque cible.

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

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau 29 Spécificité diagnostique

Selles négatives testées pour la cible	N	Positif	Négatif	Spécificité diagnostique (%)
Espèce <i>Campylobacter</i>	267	1	266	99,6 %
<i>Clostridium difficile</i>	293	2	291	99,3 %
Espèce <i>Salmonella</i>	314	2	312	99,4 %
Espèce <i>Shigella</i>	338	0	338	100 %
<i>Yersinia enterocolitica</i>	332	2	330	99,4 %

Tous les échantillons de selles étaient valides pour l'analyse. Les échantillons positifs possèdent un très faible titre, proche de la valeur LoD du système, ou sont des échantillons pour lesquels un nouveau test n'était pas possible.

Dans ce test, la spécificité diagnostique du GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit en association avec des échantillons de selles était de 99,6 % pour Cam, 99,3 % pour Cdif, 99,4 % pour Sal, 100 % pour Shi et 99,7 % pour Yen.

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

11.13 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 cliniques de selles collectées sans conservateurs ou dans un milieu Cary-Blair, certifiés positifs pour chaque cible ou dopés avec des matériaux de référence.

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 30 Sensibilité diagnostique

Échantillons de selles positifs/ dopés	N	Positif	Négatif	Sensibilité diagnostique (%)
Positifs pour l'espèce <i>Campylobacter</i>	100	100	0	100 %
Positifs pour <i>Clostridium difficile</i>	51	49	2	96,3 %
Dopés avec <i>Clostridium difficile</i> 027	3	3	0	
Positifs pour l'espèce <i>Salmonella</i>	56	56	0	100 %
Positifs pour l'espèce <i>Shigella</i>	31	31	0	100 %
Dopés avec <i>Shigella</i>	22	22	0	
Positifs pour <i>Yersinia enterocolitica</i>	39	39	0	100 %
Dopés avec <i>Yersinia enterocolitica</i>	12	12	0	

Dans ce test, la sensibilité diagnostique du GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit en association avec des échantillons de selles était de 100 % pour Cam, 96,3 % pour Cdif, 100 % pour Sal, 100 % pour Shi et 100 % pour Yen.

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 « GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit », FTP 502ING.

12 BIBLIOGRAPHIE

- K. Sen et al. (2018) Appl. Environ. Microbiol. 84
- E. J. Kuijper et al. (2006) Clin Microbiol Infect: 12 (Suppl. 6), 2–18
- U. Gross et al (2018) BMC Genomics 19(1):1-1
- T. Kellner et al. (2019) J. Clin. Microbiol. 57
- V. D. Thiem et al. (2004) J. Clin. Microbiol. 42
- J. Z. Wang et al. (2014) J. Clin. Microbiol. 52
- E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30

13 LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser ce produit uniquement avec les échantillons cliniques suivants : échantillons de selles natives ou de selles collectées dans un milieu FecalSwab.

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

Le produit n'est pas destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic de la fièvre entérique ou pour l'identification de *Salmonella enterica* sérovar Typhi en vue de l'évaluation du statut de porteur des patients.

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.

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

Un résultat négatif obtenu avec ce produit indique que l'ADN cible n'est pas détecté dans l'ADN extrait de l'échantillon ; toutefois, il n'est pas possible d'exclure le fait que de l'ADN cible soit présent à un titre inférieur à la limite de détection du produit (se reporter à la section **11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 20**). Dans ce cas, le résultat pourrait être un faux négatif.

En cas de co-infections, la sensibilité d'une cible peut être affectée par l'amplification d'une seconde cible (se reporter à la section **11 CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE page 20**).

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

D'éventuels polymorphismes, insertions ou délétions au sein de la région de l'ADN ciblé par les amorces et les sondes du produit peuvent affecter la détection de l'ADN cible.

La région amplifiée du gène ipaH est spécifique à l'espèce *Shigella*, à l'exception des *Escherichia coli* entéro-invasifs (EIEC) qui sont génétiquement apparentés à *Shigella* et sont détectés par ce produit comme positifs pour *Shigella*.

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, les résultats obtenus avec ce produit doivent être interprétés en association avec l'ensemble des observations cliniques et des résultats de laboratoire pertinents.

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, il existe un risque résiduel d'obtention de résultats non valides, ou de résultats erronés avec ce produit. Ce risque résiduel ne peut pas être éliminé ni réduit par la suite. Dans certains cas, ce risque résiduel pourrait contribuer à prendre de mauvaises décisions, avec des effets potentiellement dangereux pour le patient. Néanmoins, ce risque résiduel associé à l'utilisation prévue du produit a été évalué comme acceptable au regard des avantages potentiels pour le patient.

14 PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Tableau 31

Réaction du Positive Control non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et du Positive Control. 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 utiliser le PCR Mix pendant plus de 3 sessions d'analyse consécutives (7 heures dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de Stockage] ou dans la Cooler Unit). 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). Utiliser une nouvelle aliquote du Positive Control.
Erreur de l'instrument.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 32

Réaction du Negative Control non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et du Negative Control. 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 embouts utilisés.
Erreur de l'instrument.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

Tableau 33

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix, de l'Internal Control et de l'échantillon. Vérifier les volumes du PCR Mix, de l'Internal Control et de l'échantillon.
Dégradation du PCR Mix.	Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 7 sessions d'analyse indépendantes (de 3 heures chacune dans la « Inventory Area » [Zone de Stockage] ou dans la Cooler Unit). Ne pas utiliser le PCR Mix pendant plus de 3 sessions d'analyse consécutives (7 heures dans le bloc réfrigéré de la « Inventory Area » [Zone de Stockage] ou dans la Cooler Unit). Ne pas laisser le PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Préparer une nouvelle aliquote du PCR Mix.
Dégradation de la matrice du Contrôle interne.	Utiliser une nouvelle aliquote du Contrôle Interne
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification avec une dilution à 1:2 de l'échantillon élué dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). Répéter l'extraction avec une dilution à 1:2 de l'échantillon pré-traité 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 34

Courbe de dissociation anormale	
Causes possibles	Solutions
Absence de pic défini. Pic défini mais Tm différente de celles des autres échantillons et de celle du Contrôle positif.	Vérifier que la valeur Ct de la cible est inférieure à 30. Une grande quantité de produit d'amplification à la fin de la réaction peut interférer avec l'analyse de la courbe de fusion. Répéter l'amplification de l'échantillon pour confirmer la présence d'une cible comportant une éventuelle mutation. La cible dans l'échantillon doit être séquencée pour confirmer la mutation.

Tableau 35

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 biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR seulement). répéter l'extraction de l'échantillon prétraité 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 36

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



Numéro de référence.



Limite supérieure de température.



Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.



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



Identifiant unique de dispositif



Contenu suffisant pour << N >> tests.



Consulter le mode d'emploi.



Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

16 AVIS AUX UTILISATEURS

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

17 NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

Ce produit contient des réactifs fabriqués par Thermo Fisher Scientific et commercialisés selon des accords de licence entre ELITechGroup S.p.A. et ses filiales et Thermo Fisher Scientific. Le prix d'achat de ce produit inclut des droits, limités et non transférables, qui permettent d'utiliser uniquement cette quantité du produit dans le seul objectif de satisfaire aux activités de l'acheteur qui sont directement liées à la réalisation de tests diagnostiques chez l'homme. Pour obtenir des informations sur l'achat d'une licence relative à ce produit à des fins autres que celles mentionnées ci-dessus, contacter le Licensing Department, Thermo Fisher Scientific. E-mail : outlicensing@thermofisher.com.

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

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

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

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.

Minitip Flocked Swab® est une marque déposée de COPAN Italia S.p.A., FecalSwab™ est une marque déposée de COPAN Italia S.p.A.

Appendix A GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit utilisé en association avec les plateformes de la série Genius



ATTENTION

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

Application

Le produit **GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test qualitatif de PCR en temps réel multiplexe des acides nucléiques pour la détection et l'identification de l'ADN génomique, extrait d'échantillons cliniques, de l'espèce *Campylobacter*(**Cam**),*Clostridium difficile* (également connue en tant que *Clostridioides difficile*,**Cdif**),y compris la discrimination du ribotype 027,l'espèce *Salmonella*(**Sal**),l'espèce *Shigella*(**Shi**) et *Yersinia enterocolitica*(**Yen**).

Le test est validé en association avec les instruments **ELITe InGenius®** et **ELITe BeGenius®**, des systèmes automatisés et intégrés pour l'extraction, la PCR en temps réel et l'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons de selles humaines.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic des infections bactériennes gastro-intestinales chez les patients suspectés de présenter une infection par l'espèce *Campylobacter*,*Clostridium difficile*,l'espèce *Salmonella*,l'espèce *Shigella*et *Yersinia enterocolitica*.

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

Le produit n'est pas destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic de la fièvre entérique ou en tant qu'aide à l'identification de *Salmonella enterica* sérovar Typhi (également connue en tant que *Salmonella typhi*) pour l'évaluation du statut de porteur des patients.

Séquence amplifiée

Séquence	Gène	Fluorophore	Canal
Cible 1	ARNr 16s	AP639	Cam
Cible 2	tcdB	FAM	Cdif
Cible 3	invA	AP690	Sal
Cible 4	ipaH	AP593	Shi
Cible 5	foxA	AP559	Yen
Contrôle Interne	IC2	AP525	IC

Matrice validée

- Selles natives collectées sans conservateurs
- Selles collectées dans un milieu FecalSwab (milieu Cary-Blair modifié)

Contenu du kit et produits associés

GI Bacterial PLUS ELITe MGB Kit (RTS502ING)	GI Bacterial PLUS - ELITe Positive Control (CTR502ING)
 X 8	 X 3
GI-B PCR Mix 8 tubes de 280 µL 12 réactions par tube 96 réactions par kit 7 cycles de congélation/décongélation par tube	GI-B 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

<ul style="list-style-type: none"> Instrument ELITe InGenius : INT030. Instrument ELITe BeGenius : INT040. ELITe InGenius SP 200 : INT032SP200. 	<ul style="list-style-type: none"> CPE – Internal Control : CTRCPE InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Allemagne, réf. 19593) ou dispositif équivalent. Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S. p. A., Italie, réf. 501CS01) ou dispositif équivalent. FecalSwab™ (COPAN Italia S. p. A., Italie, réf. 470CE) ou dispositif équivalent. Consommables pour ELITe InGenius et ELITe BeGenius (se reporter au mode d'emploi des instruments ELITe InGenius et ELITe BeGenius)
--	---

Protocole ELITe InGenius et ELITe BeGenius

<ul style="list-style-type: none"> Volume d'échantillon Volume de CPE Volume d'élution total 	200 µL 10 µL 100 µL	<ul style="list-style-type: none"> 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
Selles natives/selles collectées dans un milieu FecalSwab	Cam	72 UFC/mL	100 % (100/100)	99,6 % (266/267)
	Cdif	172 UFC/mL	96,3 % (52/54)	99,3 % (291/293)
	Sal	372 UFC/mL	100 % (56/56)	99,4 % (312/314)
	Shi	337 UFC/mL	100 % (53/53)	100 % (338/338)
	Yen	363 UFC/mL	100 % (51/51)	99,4 % (330/332)

Préparation de l'échantillon

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

Type d'échantillon	Conditions de transport/conservation			
	+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Selles natives collectées sans conservateurs	≤ 24 heures	≤ 48 heures	≤ 1 mois	≤ 2 mois
Selles collectées dans un milieu FecalSwab (milieu Cary-Blair modifié)	≤ 48 heures	≤ 5 jours	≤ 1 mois	≤ 2 mois

Procédures ELITe InGenius

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

Avant l'analyse

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile	2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », élution : « 100 µL »	3. Scanner les codes-barres des échantillons à l'aide du lecteur de codes-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : GI Bacterial PLUS ELITe_ST_200_100	5. Sélectionner la méthode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) et la position de l'échantillon : Extraction Tube (Tube d'extraction)	6. Charger le PCR Mix et le Contrôle interne dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7. Charger : la PCR Cassette, la cartouche d'extraction, le tube d'élution, la cassette à embouts, les racks de tubes d'extraction	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

NOTE!

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

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

1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile	2. Vérifier les volumes d'extraction : Initial : « 200 µL », éluat : « 100 µL »	3. Scanner les codes-barres des échantillons à l'aide du lecteur de codes-barres portable ou saisir l'ID de l'échantillon
4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : GI Bacterial PLUS ELITe_ST_200_100 ou GI Bacterial PLUS ELITe_PC ou GI Bacterial PLUS ELITe_NC	5. Sélectionner la méthode « PCR Only » (PCR seulement) et la position de l'échantillon « Elution Tube » (Tube d'éluat)	6. Charger le PCR Mix dans le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks)
7. Charger : le rack de PCR Cassette (Cassette de PCR) et le rack de tubes d'éluat avec l'acide nucléique extrait	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

Procédures ELITe BeGenius

L'interface graphique (GUI) du logiciel ELITe BeGenius guide l'utilisateur, étape par étape, pour paramétriser 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 : UroGen Positive Control UroGen 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 UroGen PCR Mix et de CTR CPE (si nécessaire). 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 : GI Bacterial PLUS ELITe_Be_ST_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'éluat vides. Charger les tubes dans le « Elution Rack » (Rack d'éluat) et insérer ce dernier dans la Cooler Unit.	6. Charger le PCR Mix et le Contrôle interne dans le Reagent Rack/Elution Rack (Rack de réactifs/Rack d'éluat), puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.
7. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) et le « Extraction Basket » (Panier d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELITe InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis	8. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle	9. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats

NOTE!

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

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

<p>1. Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) sur l'écran tactile, puis cliquer sur le mode d'analyse « PCR Only » (PCR seulement)</p>	<p>2. Charger les tubes à code-barres contenant les acides nucléiques extraits ou les contrôles dans le « Elution Rack » (Rack d'élution), puis insérer ce dernier dans la Cooler Unit.</p>	<p>3. Pour les Contrôles : pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions). Pour les éluats : pour chaque « Position », entrer le « Sample ID » (ID échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), l'« Extraction kit » (Kit d'extraction) et l'« Extracted eluate vol. » (volume d'éluat extrait).</p>
<p>4. Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) d'intérêt : GI Bacterial PLUS ELITe_Be_ST_200_100 ou GI Bacterial PLÜS ELITe_Be_PC ou GI Bacterial PLUS ELITe_Be_NC</p>	<p>5. Charger le PCR Mix dans le Reagent/Elution Rack (Rack de réactifs/d'élution) et insérer ce dernier dans la Cooler Unit</p>	<p>6. Charger le « PCR Rack » (Portoir de PCR) avec la « PCR Cassette »</p>
<p>7. Fermer le tiroir. Démarrer le cycle</p>	<p>8. Visualiser, approuver et enregistrer les résultats</p>	

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

