



ELITechGroup S.p.A.
C.so Svizzera, 185
10149 Torino ITALIA

Uffici: Tel. +39-011 976 191 Fax +39-011 936 76 11
E-mail: emd.support@elitechgroup.com
Sito internet: www.elitechgroup.com

NOTICE of CHANGE dated 23/04/2024

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

« Macrolide-R/MG ELITe MGB Kit» Ref. RTS401ING-48

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

- *Addition of UDI information*
- *Product Description: typo correction related to the alignment between targets and dyes*

Composition and use of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE



LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT



THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT



CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT



LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT



A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT



DIESE FASSUNG DER GEBRAUCHSANLEITUNG IST KOMPATIBEL MIT DER VORHERIGEN VERSION DES TESTKITS



REF RTS401ING-48

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

PRINCIPE DU TEST

Le test est une PCR qualitative en temps réel qui détecte l'ADN de *Mycoplasma genitalium*, et les principales mutations associées à la résistance aux macrolides, isolé à partir d'échantillons et amplifié à l'aide du réactif du test, le R/MG PCR Mix, qui contient des amorces et des sondes dotées de la technologie ELITE MGB.

Les sondes ELITE MGB sont activées lorsqu'elles s'hybrident aux produits de PCR associés. Les **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.

DESCRIPTION DU PRODUIT

Le produit **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** fournit le réactif du test, le **R/MG PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amorces et les sondes spécifiques pour :

- le gène de l'ARNr 23S de l'espèce *M. genitalium*, détecté dans le Canal **MG** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée par le colorant AquaPhluor® 525 (AP525),
- le Internal Control (**IC**), spécifique pour la séquence artificielle IC2, détecté dans le Canal **IC** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée par le colorant AquaPhluor® 680 (AP680).

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

Le **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** contient suffisamment de réactifs pour effectuer **48 tests** sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius (12 tests avec chaque tube)**, en utilisant 20 µL par réaction.

Le **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** peut également être utilisé en association avec des instruments équivalents.

MATÉRIEL FOURNI

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
R/MG PCR Mix réf. RTS401ING-48	Mélange de réactifs pour la PCR en temps réel tube doté d'un capuchon BLANC	4 x 280 µL	-

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants non poudrés en nitrile jetables ou matériel similaire.
- Agitateur de type vortex.
- Centrifugeuse de paillasse (~3 000 tr/min).
- Microcentrifugeuse de paillasse (~13 000 tr/min).
- Micropipettes et cônes stériles avec filtre pour les aérosols ou cônes stériles à déplacement positif (0,5-10 µL, 2-20 µL, 5-50 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL).
- Tubes stériles à capuchon vissant de 2,0 mL (Sarstedt, Allemagne, réf. 72.694.005).
- Eau de qualité biologie moléculaire.

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS401ING-48



UDI 08033891486686

TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	page 1
PRINCIPE DU TEST	page 2
DESCRIPTION DU PRODUIT	page 2
MATÉRIEL FOURNI	page 2
MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	page 2
AUTRES PRODUITS REQUIS	page 3
AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	page 3
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	page 5
PROCÉDURE AVEC LE ELITE InGenius	page 6
PROCÉDURE AVEC LE ELITE BeGenius	page 12
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	page 16
BIBLIOGRAPHIE	page 22
LIMITES DE LA PROCÉDURE	page 22
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	page 24
LÉGENDE DES SYMBOLES	page 27
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	page 28
ANNEXE : GUIDE DE DÉMARRAGE RAPIDE	page A

APPLICATION

Le produit **Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit** est un dispositif médical de diagnostic *in vitro* destiné à être utilisé par les professionnels de santé en tant que test qualitatif de PCR en temps réel des acides nucléiques pour la détection de l'ADN de *Mycoplasma genitalium* et l'identification des principales mutations associées à la résistance aux macrolides.

Le test est validé en association avec les instruments **ELITE InGenius®** et **ELITE BeGenius®**, des systèmes intégrés et automatisés d'extraction, de PCR en temps réel et d'interprétation des résultats, en utilisant des échantillons humains d'urine de 1^{er} jet collectée sans conservateurs.

Le produit est destiné à être utilisé en tant qu'aide au diagnostic des infections du tractus urogénital, en association avec d'autres résultats d'analyse de laboratoire et données cliniques.

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

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 :

Instrument et logiciel	Produits et réactifs
<p>ELITe InGenius (EG SpA, réf. INT030). ELITe InGenius Software version 1.3.0.17 (ou versions ultérieures). R_MG ELITe_PC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif. R_MG ELITe_NC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif. R_MG ELITe_U_200_100, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons d'urine de 1^{er} jet.</p>	<p>ELITe InGenius SP200 (EG SpA, réf. INT032SP200). ELITe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, réf. INT032CS). ELITe InGenius PCR Cassette (EG SpA, réf. INT035PCR). ELITe InGenius Waste Box (EG SpA, réf. F2102-000). 300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., réf. TF-350-L-R-S), avec le ELITe InGenius uniquement.</p>
<p>ELITe BeGenius (EG SpA, réf. INT040). ELITe BeGenius Software version 2.1.0 (ou versions ultérieures). R_MG ELITe_Be_PC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif. R_MG ELITe_Be_NC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif. R_MG ELITe_Be_U_200_100, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons d'urine de 1^{er} jet.</p>	<p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Suisse, réf. 30180118), avec le ELITe BeGenius uniquement. CPE - Internal Control (EG SpA, réf. CTRCPE) Macrolide-R/MG - ELITe Positive Control (EG SpA, réf. CTR401ING)</p>

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

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

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, cônes 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.

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 réduire la dispersion dans l'environnement afin d'éviter tout risque de contamination.

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 dans l'environnement, et toute contamination des échantillons et des réactifs.

Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

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

* avec congélation intermédiaire

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

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

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)*	+2°/+8 °C*	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Urine de 1 ^{er} jet	collectée sans conservateurs	≤ 5 jours	≤ 5 jours	≤ 2 mois	≤ 2 ans

* Référence : G. L. Murray et al

L'urine de 1^{er} jet peut être utilisée « telle quelle » ou concentrée 10x par une centrifugation à environ 1 125 tr/min pendant 10 minutes.

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

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

Protocoles de test pour le Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit				
Échantillon	Instrument	Nom du protocole de test	Rapport	Caractéristiques
Urine de 1 ^{er} jet collectée sans conservateurs	ELITE InGenius	R_MG ELITE_U_200_100	Positif/ Négatif	Volume d'extraction : 200 µL Volume d'élution de l'extraction : 100 µL Internal Control: 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	R_MG ELITE_Be_U_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**).

Remarque : 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 « Avertissements et précautions ».

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 « Caractéristiques de performance » pour obtenir de plus amples informations concernant les substances interférentes.

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 Contrôle positif, utiliser le produit **Macrolide-R/MG - ELITE Positive Control** (non inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **R_MG ELITE_PC** ou **R_MG ELITE_Be_PC**,
- Pour le Contrôle négatif, utiliser de l'eau de qualité biologie moléculaire (non incluse dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **R_MG ELITE_NC** ou **R_MG ELITE_Be_NC**.

Remarque : 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 majeure.

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.

PROCÉDURE AVEC LE ELITE InGenius

La procédure d'utilisation du **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** avec le **ELITE InGenius** comporte trois étapes :

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

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 (**R/MG Positive Control**, **R/MG Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **R/MG PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **R/MG PCR Mix**, analyser les contrôles de PCR comme décrit dans les sections suivantes.
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et l'utilisation des protocoles de test fournis par EG SpA (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
- Si le protocole de test d'intérêt n'est pas chargé dans le système, contacter le service clientèle ELITechGroup local.

ÉTAPE 2 - Paramétrage de la session d'analyse

Le **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITE InGenius** pour les opérations suivantes :

- A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement]),
- C. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement]).

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

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

Avant de paramétrer une analyse :

Décongeler les tubes de **R/MG 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.

Remarque : garder 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

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante. Pour ce test, 200 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube d'extraction préalablement étiqueté.	Décongeler les tubes d'éluition contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Contrôle positif 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 Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'éluition) 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'éluition 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'éluition 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'éluition 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

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
6	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »). Saisir le numéro de lot et la date de péremption du Contrôle positif 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 de l'échantillon).	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'éluition [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'éluition [ligne du bas]).
9	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
10	Charger le CPE et le PCR Mix sur le « Inventory Block » (Gestionnaire de stocks) en se reportant à la « Load List » (Liste) et saisir le numéro de lot et la date de péremption du CPE et du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	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 et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.	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 et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.
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'éluition avec les échantillons extraits.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif.
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.

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

Remarque : à la fin de l'analyse, le **PCR Mix** peut être retiré de l'instrument, bouché et stocké à -20 °C ou à une température plus basse ou peut être conservé dans le bloc réfrigéré de l'instrument pendant un maximum de 7 heures (pour 2 sessions d'analyse de 3 heures chacune et pendant 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.

Remarque : à la fin de l'analyse, le **Contrôle positif** restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C ou à une température plus basse. Éviter de renverser le **Contrôle positif**. Le **Contrôle négatif** restant doit être mis au rebut.

Remarque : le **R/MG Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

Remarque : à la fin de l'analyse, la **PCR Casette** (Casette 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.

ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

Le **ELITE InGenius** surveille les signaux de fluorescence cibles et de contrôle interne pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du protocole de test (Assay Protocols) 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.

Remarque : 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 **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

- Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif,
- Validation des résultats de l'échantillon,
- Rapport des résultats de l'échantillon.

A. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif d'amplification

Le **ELITE InGenius software** interprète les résultats de la PCR pour la cible des réactions du Contrôle positif et du Contrôle négatif avec les paramètres des protocoles de test (Assay Protocols) **R_MG ELITE_PC** et **R_MG ELITE_NC**. Les valeurs Ct et de Tm résultantes sont utilisées pour vérifier le système (lot de réactifs et instrument).

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

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

Les résultats de l'amplification du Contrôle positif et du Contrôle négatif sont utilisés par le **ELITE InGenius software** pour paramétrer les graphiques de contrôle surveillant l'exécution des étapes d'amplification. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

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

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

B. Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELITE InGenius software** interprète les résultats de la PCR pour la cible (canal **MG**) et le Contrôle interne (canal **IC**) avec les paramètres de protocole de test (Assay Protocols) **R_MG ELITE_U_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.

1) Contrôle positif	Statut
R/MG Positive Control	APPROUVÉ
2) Contrôle négatif	Statut
R/MG Negative Control	APPROUVÉ

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

Pour chaque échantillon, le système rapporte une combinaison des messages suivants spécifiant si les ADN de l'agent pathogène sont détectés ou non détectés.

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
MG:DNA detected. Macrolide Resistance Positive (MG : ADN détecté. Résistance Aux Macrolides Positive).	L'ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> a été détecté dans l'échantillon. Une mutation a été détectée dans la région du gène testée. L'échantillon pourrait être résistant aux macrolides .
MG:DNA detected. Macrolide Resistance Negative (MG : ADN détecté. Résistance Aux Macrolides Négative).	L'ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> a été détecté dans l'échantillon. Aucune mutation n'a été détectée dans la région du gène testée. L'échantillon pourrait être sensible aux macrolides .
MG:DNA detected - Typing not feasible-Retest Sample (MG : ADN détecté - Typage impossible - Retester l'échantillon)	L'ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> a été détecté dans l'échantillon mais n'est pas suffisant pour effectuer l'analyse de la résistance aux macrolides. Le test doit être répété.
MG:DNA detected. Typing not determined (MG : ADN détecté. Typing not determined)	L'ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> a été détecté dans l'échantillon mais l'analyse de la résistance aux macrolides n'a pas été possible.
MG:DNA not detected or below the LoD (MG : ADN non détecté ou inférieur à LoD)	L'ADN de <i>Mycoplasma genitalium</i> n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif et valide ou la concentration cible est inférieure à la limite de détection du test.
Invalid-Retest Sample (Non valide - Tester à nouveau l'échantillon)	Résultat d'analyse non valide en raison d'un échec du Internal Control (extraction incorrecte, contamination par des inhibiteurs). Le test doit être répété.

Les échantillons rapportés comme « MG:DNA detected - Typing not feasible-Retest Sample » (MG : ADN détecté - Typage impossible - Retester l'échantillon) ne sont pas appropriés pour l'analyse de la résistance aux macrolides. Dans ce cas, l'ADN de MG a été détecté mais l'ADN n'est pas suffisant pour obtenir des résultats corrects pour la résistance aux macrolides de manière reproductible. Ceci est dû à une faible concentration de *Mycoplasma genitalium* dans l'échantillon ou à des problèmes lors de l'étape d'amplification ou d'extraction (dégradation d'ADN, perte d'ADN pendant l'extraction ou contamination par des inhibiteurs dans l'éluat). Le test doit être répété.

Remarque : lorsqu'un échantillon est rapporté comme « MG:DNA detected - Typing not feasible-Retest Sample » (MG : ADN détecté - Typage impossible - Retester l'échantillon), le résultat ne peut pas être approuvé mais la valeur de la Tm peut être vérifiée par l'opérateur. Si la valeur de la Tm est inférieure à 63,0 °C (limite inférieure de la Tm du type sauvage), l'échantillon est « MG DNA detected. Macrolide resistance positive » (MG : ADN détecté. Résistance Aux Macrolides Positive).

Les échantillons rapportés comme « MG:DNA detected. Typing not determined » (MG : ADN détecté. Typing not determined) sans aucune indication sur le statut de la résistance aux macrolides ne sont pas appropriés pour le génotypage. Dans ce cas, l'ADN cible a été détecté dans l'échantillon mais il n'a pas été possible de calculer une Tm ou la valeur de Tm calculée était en dehors des intervalles de Tm pour le typage. Dans ce dernier cas, ceci peut être dû à des mutations différentes de celles prévues, à des échantillons collectés de manière incorrecte ou à des problèmes lors de l'étape d'extraction (contamination par des inhibiteurs dans l'éluat).

Les échantillons rapportés comme : « MG:DNA not detected or below the LoD » (MG : ADN non détecté ou inférieur à LoD) sont appropriés pour l'analyse mais il n'a pas été possible de détecter l'ADN de MG. Dans ce cas, il n'est pas possible d'exclure le fait que de l'ADN de MG soit présent à une concentration inférieure à la limite de détection du test (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »).

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 collecte de l'échantillon, d'extraction ou de PCR (par ex. échantillonnage incorrect, dégradation ou perte d'ADN pendant l'extraction ou inhibiteurs dans l'éluat), ce qui peut générer des résultats incorrects.

Si il reste un volume d'éluat suffisant, l'éluat peut être à nouveau testé par une analyse d'amplification en mode « PCR Only » (PCR seulement). Si le deuxième résultat est non valide, l'échantillon doit être à nouveau testé en procédant à l'extraction d'un nouvel échantillon en utilisant le mode « Extract + PCR » (Extraction + PCR) (se reporter à la section « Problèmes et solutions »).

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

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

C. 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.

PROCÉDURE AVEC LE ELITE BeGenius

La procédure d'utilisation du **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** avec le **ELITE BeGenius** comporte trois étapes :

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

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 (**R/MG Positive Control**, **R/MG Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **R/MG PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **R/MG PCR Mix**, analyser les contrôles de PCR comme décrit dans les sections suivantes.
- choisir le type d'analyse, en suivant les instructions de l'interface graphique (GUI) pour le paramétrage de la session d'analyse et l'utilisation des protocoles de test fournis par EG SpA (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).

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

ÉTAPE 2 - Paramétrage de la session d'analyse

Le **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITE BeGenius** pour les opérations suivantes :

- A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement]),
- C. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement]).

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

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

Avant de paramétrer une analyse :

Décongeler les tubes de **R/MG 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.

Remarque : garder 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 :

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
1	Identifier les échantillons et, si nécessaire, les décongeler à température ambiante. Pour ce test, 200 µL d'échantillon doivent être transférés dans un tube Sarstedt de 2 mL préalablement étiqueté.	Si nécessaire, décongeler les tubes d'élué contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Contrôle positif 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.
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 Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élué) fourni avec le ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécution cycle) dans l'écran « Home » (Accueil).
4	Retirer les « Racks » de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » des « Lane 1, 2 and 3 » (Lane 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » et les placer sur la table de préparation.
5	Sélectionner le « Run mode » : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner le « Run mode » : « PCR Only » (PCR seulement).	Sélectionner le « Run mode » : « PCR Only » (PCR seulement).
6	Charger les échantillons dans le « Sample Rack » (Compartment des échantillons). Lorsque des tubes secondaires « 2 mL Tubes » sont chargés, utiliser les adaptateurs bleus pour le « Sample Rack » (Compartment des échantillons).	Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Rack d'élué).	Charger les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif dans le « Elution Rack » (Rack d'élué).
7	Insérer le « Sample Rack » (Compartment 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 « Tube de 2 mL ». Si les tubes secondaires ne comportent pas de codes-barres, saisir manuellement le « Sample ID » [ID échantillon]).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élué) 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'élué extrait).	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élué) dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 3 » (L3). Si nécessaire, pour chaque « Position », saisir le « Reagent name » (Nom du réactif) et le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
8	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
9	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'élué 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'élué 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'élué de l'extraction) est de 100 µL.
10	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le « Assay Protocol » (Protocole de test) dans la colonne « Assay » (Analyse) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR seulement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR seulement])
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'élué) dans le « Elution Rack » (Rack d'élué) (les tubes d'élué peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité).	Non applicable	Non applicable
13	Insérer le « Elution Rack » (Rack d'élué) 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'élué).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élué).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élué).
16	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Rack de réactifs/d'élué) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque 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'élué) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque 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'élué) dans la « Lane 2 » (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (L1) de la « Cooler Unit ». Si nécessaire, pour chaque PCR Mix, saisir le « S/N » (numéro de série), le « Lot No. » (numéro de lot), la « Exp. Date » (date de péremption) et le « T/R » (nombre de réactions).
17	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
18	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.	Vérifier les embouts dans les « Tip Racks » (Compartiments à embouts) de la « Inventory Area » (Zone de Stockage) et remplacer les « Tip Racks » si nécessaire.
19	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
20	Charger le « PCR Rack » (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.

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

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

Remarque : à la fin de l'analyse, le **Contrôle positif** restant peut être retiré de l'instrument, bouché et conservé à -20 °C ou à une température plus basse. Éviter de renverser le Contrôle positif. Le **Contrôle négatif** restant doit être jeté.

Remarque : le **R/MG Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

Remarque : 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.

ÉTAPE 3 - Examen et approbation des résultats

Le **ELITE BeGenius** surveille les signaux de fluorescence cibles et de contrôle interne pour chaque réaction et applique automatiquement les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) pour générer des courbes de PCR qui sont ensuite interprétées en résultats.

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

Remarque : 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 **Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit** en exécutant la procédure suivante :

- A. Validation des résultats du Contrôle positif et du Contrôle négatif,
- B. Validation des résultats de l'échantillon,
- C. Rapport des résultats de l'échantillon.

Remarque : se reporter au paragraphe correspondant relatif à la procédure avec le **ELITE InGenius** pour connaître les détails.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du test a été déterminée pour l'instrument **ELITE InGenius** en testant des échantillons d'urine de 1^{er} jet collectée sans conservateurs, dopés avec un matériel de référence de *Mycoplasma genitalium* (Qnostics, Royaume-Uni, code MG1803023B).

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.

Limite de détection (organismes/mL) pour des échantillons d'urine de 1 ^{er} jet sur le ELITE InGenius		
LoD	Limites de l'intervalle de confiance à 95 %	
	Limite inférieure	Limite supérieure
247	155	634

La valeur de la LoD calculée a été vérifiée sur les **ELITE InGenius** et **ELITE BeGenius** en testant des échantillons d'urine de 1^{er} jet et d'urine concentrée, dopés avec un matériel de référence de *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775) à la concentration revendiquée.

Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour la cible du Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit avec les deux matrices sur les ELITE BeGenius et ELITE InGenius.

Détection de la résistance aux macrolides

La détection de la résistance aux macrolides du test a été évaluée sur le ELITE InGenius en testant des échantillons certifiés (fournis par un laboratoire externe) et des ADN plasmidiques contenant la région amplifiée du gène de l'ARNr 23S avec les principales mutations associées à la résistance aux antibiotiques répertoriées dans le tableau ci-dessous :

Mutation
A2058G
A2058C
A2058T
A2059G
A2059C
A2062G
A2062T

Remarque : le test est capable de détecter d'autres mutations dans la même région du gène de l'ARNr 23S, par exemple la mutation A2062C. Toutefois, cette mutation ne semble pas être associée à la résistance aux macrolides.

Les résultats du test sont rapportés dans la section suivante relative à l'efficacité de détection. Tous les isolats et ADN plasmidiques testés ont été détectés comme positifs pour *Mycoplasma genitalium* et ont été correctement typés comme éventuellement résistants aux macrolides par le produit Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit.

Inclusivité : efficacité de détection

L'efficacité de détection du test pour *Mycoplasma genitalium* (y compris des variants résistants à l'azithromycine) a été évaluée par une analyse *in silico* des séquences disponibles dans la base de données de nucléotides ENA de l'EBI.

L'analyse a montré une conservation des séquences et une absence de mutations significatives. En conséquence, on s'attend à ce que les souches et/ou isolats soient efficacement détectés.

L'efficacité de détection a également été vérifiée par une analyse d'ADN génomique certifié issu d'échantillons cliniques (fournis par un laboratoire externe) et d'ADN plasmidiques comportant des mutations pour une résistance à l'azithromycine.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Échantillon	Pos./Rép.	Mut./Rép.
<i>M. genitalium</i> type sauvage	3/3	0/3
pMG A2058G	3/3	3/3
pMG A2058C	3/3	3/3
pMG A2058T	3/3	3/3
pMG A2059G	3/3	3/3
pMG A2059C	3/3	3/3
pMG A2062G	12/12	12/12
pMG A2062T	12/12	12/12
MG 410 (A2058G)	1/1	1/1
MG 426 (A2058G)	1/1	1/1
MG 539 (A2059G)	1/1	1/1
MG 540 (A2058G)	1/1	1/1

Marqueurs potentiellement interférents

La réactivité croisée potentielle du test avec d'autres organismes non souhaitables a été évaluée par une analyse *in silico* des séquences disponibles dans la base de données de nucléotides ENA de l'EBI.

Les régions choisies pour l'hybridation des amorces et des sondes fluorescentes ont été vérifiées par rapport à l'alignement des séquences d'autres bactéries et virus. Les régions d'hybridation ont montré une absence d'homologies significatives et n'ont indiqué aucune interférence potentielle.

L'absence de réactivité croisée avec d'autres organismes qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques d'urine a également été vérifiée en testant un panel de matériels certifiés (ATCC et Vircell Microbiologist).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Réactivité croisée potentielle		
Organisme	Souche	Résultat
<i>Chlamydia trachomatis</i>	LGV II	Aucune réactivité croisée
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	DSM 9188	Aucune réactivité croisée
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Isolat clinique	Aucune réactivité croisée
<i>Mycoplasma hominis</i>	PG21	Aucune réactivité croisée
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	NCTC10177	Aucune réactivité croisée
<i>Escherichia coli</i>	CFT073	Aucune réactivité croisée
<i>Ureaplasma parvum</i>	NCTC 11736	Aucune réactivité croisée
<i>Treponema pallidum</i>	Nichols	Aucune réactivité croisée
<i>Gardnerella vaginalis</i>	594	Aucune réactivité croisée
<i>Mobiluncus mulieris</i>	BV 64-5	Aucune réactivité croisée
<i>Bacteroides fragilis</i>	NCTC 9343	Aucune réactivité croisée
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	MSHD	Aucune réactivité croisée
<i>Candida albicans</i>	3147	Aucune réactivité croisée
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Pak	Aucune réactivité croisée
HSV1	McIntyre	Aucune réactivité croisée
HSV2	G	Aucune réactivité croisée

Tous les organismes exerçant une réactivité croisée potentielle se sont révélés négatifs pour les cibles lorsqu'ils ont été testés à l'aide du Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit.

L'absence d'interférence par d'autres organismes qui peuvent être présents dans des échantillons cliniques d'urine a été vérifiée en testant un panel de matériels certifiés dopés avec de l'ADN de *Mycoplasma genitalium* (Vircell Microbiologist) à une faible concentration.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Interférence potentielle		
Organisme	Souche	Résultat
<i>Chlamydia trachomatis</i>	LGV II	Aucune interférence
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	DSM 9188	Aucune interférence
<i>Trichomonas vaginalis</i>	Isolat clinique	Aucune interférence
<i>Mycoplasma hominis</i>	PG21	Aucune interférence
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	NCTC10177	Aucune interférence
<i>Escherichia coli</i>	CFT073	Aucune interférence
<i>Ureaplasma parvum</i>	NCTC 11736	Aucune interférence
<i>Treponema pallidum</i>	Nichols	Aucune interférence
<i>Gardnerella vaginalis</i>	594	Aucune interférence
<i>Mobiluncus mulieris</i>	BV 64-5	Aucune interférence
<i>Bacteroides fragilis</i>	NCTC 9343	Aucune interférence
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	MSHD	Aucune interférence
<i>Candida albicans</i>	3147	Aucune interférence
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Pak	Aucune interférence
HSV1	McIntyre	Aucune interférence
HSV2	G	Aucune interférence

Tous les organismes potentiellement interférents n'ont montré aucune interférence avec l'amplification de la cible lorsqu'ils ont été testés à l'aide du Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit.

Substances interférentes

La réactivité croisée exercée par des substances potentiellement interférentes (endogènes et exogènes) qui peuvent être observées dans des échantillons d'urine de 1^{er} jet a été évaluée pour le test par l'analyse d'un panel de substances à des concentrations pertinentes.

Les valeurs Ct de la cible et du Internal Control ont été utilisées pour calculer le pourcentage du coefficient de variation (% CV) afin d'évaluer l'éventuelle interférence.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

% CV Ct (Réf. + test)		
Substance	<i>M. genitalium</i>	IC
Sang total	1,06	1,12
Sperme	1,22	1,03
Mucine	2,36	1,23
Azithromycine	3,74	1,37

Tous les échantillons se sont révélés positifs pour la cible d'intérêt. Le pourcentage du coefficient de variation (%CV) des valeurs Ct était inférieur à 4 %. Aucune des substances testées aux concentrations indiquées n'a montré d'interférence avec la détection de la cible par le Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit.

Répétabilité

La répétabilité du test a été évaluée sur les ELITE BeGenius et ELITE InGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons d'urine de 1^{er} jet qui étaient négatifs ou avaient été dopés avec *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775).

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

Répétabilité intra-session avec le ELITE BeGenius					
Échantillon	Pos./Nég.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			Concordance (%)
		Ct moyen	EC	% CV	
Négatif	0/8	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	8/8	34,59	0,69	1,98	100 %
10 x la LoD	8/8	32,51	0,41	1,25	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.

Répétabilité intra-session avec le ELITE InGenius					
Échantillon	Pos./Nég.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			Concordance (%)
		Ct moyen	EC	% CV	
Négatif	0/8	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	8/8	35,97	0,64	1,77	100 %
10 x la LoD	8/8	32,66	0,30	0,93	100 %

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

Répétabilité inter-sessions avec le ELITE BeGenius					
Échantillon	Pos./Nég.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			Concordance (%)
		Ct moyen	EC	% CV	
Négatif	0/16	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	16/16	35,18	0,98	2,78	100 %
10 x la LoD	16/16	32,79	0,45	1,37	100 %

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

Répétabilité inter-sessions avec le ELITE InGenius					
Échantillon	Pos./Nég.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			Concordance (%)
		Ct moyen	EC	% CV	
Négatif	0/16	N.A.	N.A.	N.A.	100 %
3 x la LoD	16/16	36,13	0,80	2,21	100 %
10 x la LoD	16/16	32,91	0,57	1,73	100 %

Dans le test de répétabilité, le Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit a détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct des cibles (en tant que % CV) de 2,78 %.

Reproductibilité

La reproductibilité du test a été évaluée sur les ELITE BeGenius et ELITE InGenius par l'analyse d'un panel d'échantillons d'urine de 1^{er} jet qui étaient négatifs ou avaient été dopés avec *Mycoplasma genitalium* (DSMZ, DSM 19775).

Les résultats de la reproductibilité inter-lots (deux lots) sur le ELITE BeGenius sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Reproductibilité inter-lots avec le ELITE BeGenius					
Échantillon	Pos./Rép.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			Concordance (%)
		Ct moyen	EC	% CV	
Négatif	0/8	-	-	-	100 %
3 x la LoD	8/8	35,75	0,27	0,75	100 %
10 x la LoD	8/8	33,16	0,74	2,23	100 %

Les résultats de la reproductibilité inter-lots (deux lots) sur le ELITE InGenius sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Reproductibilité inter-lots avec le ELITE InGenius					
Échantillon	Pos./Rép.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			Concordance (%)
		Ct moyen	EC	% CV	
Négatif	0/8	-	-	-	100 %
3 x la LoD	8/8	35,79	0,83	2,31	100 %
10 x la LoD	8/8	33,65	0,44	1,29	100 %

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

Reproductibilité inter-instruments avec le ELITE BeGenius					
Échantillon	Pos./Rép.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			Concordance (%)
		Ct moyen	EC	% CV	
Négatif	0/16	-	-	-	100 %
3 x la LoD	16/16	35,59	0,79	2,22	100 %
10 x la LoD	16/16	33,19	0,46	1,39	100 %

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

Reproductibilité inter-instruments avec le ELITE InGenius					
Échantillon	Pos./Rép.	<i>Mycoplasma genitalium</i>			Concordance (%)
		Ct moyen	EC	% CV	
Négatif	0/16	-	-	-	100 %
3 x la LoD	16/16	35,67	0,05	1,94	100 %
10 x la LoD	16/16	33,25	0,23	0,69	100 %

Dans le test de reproductibilité, le Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit a détecté tous les échantillons comme attendu et a montré une variabilité maximale des valeurs Ct des cibles (en tant que % CV) de 2,31%.

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 d'urine de 1^{er} jet collectée sans conservateurs, dopés avec des matériels 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.

Échantillons	N	positifs	négatifs	Sensibilité diagnostique (%)
Urine de 1 ^{er} jet positive pour <i>M. genitalium</i>	13	13	0	100 %
Urine de 1 ^{er} jet dopée avec <i>M. genitalium</i>	20	20	0	100 %

La sensibilité diagnostique du Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit en association avec des échantillons d'urine de 1^{er} jet était de 100 % pour *Mycoplasma genitalium*.

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 d'urine de 1^{er} jet collectée sans conservateurs, certifiés négatifs ou présumés négatifs.

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.

Échantillons	N	positifs	négatifs	Spécificité diagnostique (%)
Urine de 1 ^{er} jet négative pour <i>M. genitalium</i>	30	0	30	100 %

Tous les échantillons d'urine de 1^{er} jet étaient valides pour l'analyse. Dans ce test, la spécificité diagnostique du Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit en association avec des échantillons d'urine de 1^{er} jet était de 100 % pour *Mycoplasma genitalium*.

La valeur seuil Ct de l'IC est définie à 32.

Confirmation des échantillons positifs pour MG montrant une résistance aux antibiotiques

La sensibilité diagnostique du test pour la résistance aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour *Mycoplasma genitalium* montrant une résistance aux antibiotiques, a été évaluée en association avec le **ELITE InGenius** en analysant des échantillons cliniques d'urine de 1^{er} jet collectée sans conservateurs, positifs et dopés avec des matériels de référence.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	positifs	résistants	sensibles
Urine de 1 ^{er} jet positive pour <i>M. genitalium</i> montrant une résistance	6	6	6	0
Urine de 1 ^{er} jet dopée avec <i>M. genitalium</i> montrant une résistance	24	24	24	0

Tous les échantillons positifs pour *Mycoplasma genitalium* montrant une résistance aux antibiotiques se sont révélés positifs et éventuellement résistants à l'aide du Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit. Dans ce test, la sensibilité diagnostique du Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit pour la résistance aux antibiotiques était de 100 %.

Confirmation des échantillons positifs pour MG montrant une sensibilité aux antibiotiques

La spécificité diagnostique du test pour la sensibilité aux antibiotiques, en tant que confirmation des échantillons positifs pour *Mycoplasma genitalium* montrant une sensibilité aux antibiotiques, a été évaluée en association avec le **ELITE InGenius** en analysant des échantillons cliniques d'urine de 1^{er} jet collectée sans conservateurs, positifs et dopés avec des matériels de référence.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	positifs	résistants	sensibles
Urine de 1 ^{er} jet positive pour <i>M. genitalium</i> montrant une sensibilité	4	4	0	4
Urine de 1 ^{er} jet dopée avec <i>M. genitalium</i> montrant une sensibilité	20	20	0	20

Tous les échantillons positifs pour *Mycoplasma genitalium* montrant une sensibilité aux antibiotiques se sont révélés positifs et éventuellement sensibles à l'aide du Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit. Dans ce test, la spécificité diagnostique du Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit pour la sensibilité aux antibiotiques était de 100 %.

Remarque : 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 « Macrolide-R/MG ELITE MGB Kit », FTP RTS401ING-48.

BIBLIOGRAPHIE

- Twin J. et al. (2012) PLoS ONE Vol. 7, Issue 4
 Nijhuis R.H.T. et al J. Antimicrob. Chemother.(2015), 70: 2515-2518
 E. A. Lukhtanov et al. (2007) *Nucleic Acids Res.* 35: e30
 G. L. Murray et al. (2019) J. Appl. Microbiol. 127(4):1219-1223
 A. Guschin et al. (2015) BMC Infect Dis. 15:40.
 R. Palich et al. (2021) Sex. Transm. Dis. 48(11):e163-e164.
 K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 - 740.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Utiliser ce produit uniquement avec les échantillons cliniques suivants : urine de 1^{er} jet.

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

Les résultats obtenus avec ce produit dépendent de l'identification, de la collecte, du transport, de la conservation et du traitement appropriés des échantillons. Afin d'éviter tout résultat incorrect, il est par conséquent nécessaire de prendre des précautions particulières pendant ces étapes et de suivre scrupuleusement le mode d'emploi fourni avec le produit.

La méthode de PCR en temps réel utilisée dans ce produit présente une sensibilité analytique élevée qui la rend sensible à une contamination par les échantillons cliniques positifs, les contrôles positifs et les produits de PCR. Une contamination croisée peut générer des résultats faux positifs. Le format du produit est conçu pour limiter la contamination croisée. Toutefois, une contamination croisée ne peut être évitée qu'en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et en suivant le présent mode d'emploi.

Ce produit doit être manipulé par du personnel qualifié et dûment formé au traitement des échantillons biologiques potentiellement infectieux et des préparations chimiques classifiées comme dangereuses, afin de prévenir les accidents pouvant avoir des conséquences potentiellement graves pour l'utilisateur et les autres personnes.

Ce produit exige de porter un équipement de protection individuelle et de disposer de zones appropriées dédiées au traitement des échantillons biologiques potentiellement infectieux et des préparations chimiques classifiées comme dangereuses, afin de prévenir les accidents pouvant avoir des conséquences potentiellement graves pour l'utilisateur et les autres personnes.

Ce produit exige de porter des 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'a pas été détecté dans l'ADN extrait de l'échantillon ; toutefois, il n'est pas possible d'exclure le fait que de l'ADN cible soit présent à un titre inférieur à la limite de détection du produit (se reporter à la section « Caractéristiques de performance »). 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 « Caractéristiques de performance »).

Les résultats obtenus avec ce produit peuvent parfois être non valides en raison d'un échec du Internal Control. 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.

Les résultats obtenus avec ce produit relatifs à une éventuelle résistance aux macrolides de *Mycoplasma genitalium* sont limités à la détection des principales mutations, comme indiqué à la section « Caractéristiques de performance ». D'autres mutations non détectées par ce produit peuvent être associées à une résistance aux macrolides. D'un autre côté, des mutations silencieuses peuvent être détectées par ce produit, mais elles ne sont pas associées à une résistance aux macrolides. Par conséquent, un test de sensibilité aux antimicrobiens phénotypique est requis pour conformer la sensibilité ou la résistance aux macrolides.

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

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

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

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Réaction du Contrôle positif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et du Contrôle positif. Vérifier les volumes du PCR Mix et du Contrôle positif.
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 Contrôle positif.	Ne pas utiliser le Contrôle positif 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 Contrôle positif.
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

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

Réaction de l'échantillon non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix, du Internal Control et de l'échantillon. Vérifier les volumes du PCR Mix, du 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 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. Préparer une nouvelle aliquote de PCR Mix.
Dégradation de la matrice du Internal Control.	Utiliser une nouvelle aliquote du Internal Control.
Inhibition due à des substances interférentes dans l'échantillon.	Répéter l'amplification avec une dilution à 1:3 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 1:3 de l'échantillon dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « Extract + PCR » (Extraction + PCR).
Erreur de l'instrument.	Contactez le service technique d'ELITechGroup.

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.

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

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

LÉGENDE DES SYMBOLES

	Numéro de référence.
	Limite supérieure de température.
	Code de lot.
	Date de péremption (dernier jour du mois).
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> .
	Conforme aux exigences de la directive européenne 98\79\CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> .
	Identifiant unique de dispositif
	Contenu suffisant pour « N » tests.
	Attention, consulter le mode d'emploi.
	Contenu.
	Tenir à l'abri de la lumière du soleil.
	Fabricant.

NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

Ce produit contient des réactifs fabriqués par Thermo Fisher Scientific et commercialisés selon des accords de licence entre EG SpA 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 brevets américains numéros 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 et par les brevets EP numéros 1687609, 1781675, 1789587, 2689031, 2714939, 2736916, 2997161, ainsi que par des demandes de brevet actuellement en instance.

Les technologies ELITe InGenius® et 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.

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit

used in association with Genius series® platforms

Ref: RTS401ING-48



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

Intended use

The product **Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit** is an in vitro diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as a qualitative nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection of the DNA of *Mycoplasma genitalium* and for identification of main Macrolide resistance associated mutations.

The assay is validated in association with the **ELITE InGenius®** and **ELITE BeGenius®** instruments, automated and integrated systems for extraction, Real-Time PCR and results interpretation, using human specimens of first void urine collected without preservatives.

The product is intended for use as an aid in the diagnosis of uro-genital tract infections, in conjunction with other laboratory test results and clinical data.

The results must be interpreted in combination with all relevant clinical observations and laboratory outcomes.

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	23S rRNA	AP525	MG
Internal Control	IC2	AP680	IC

Validated matrix

- › first void urine collected without preservatives

Kit content and related products

Macrolide-R/MG ELITE MGB® Kit (RTS401ING-48)	Macrolide-R/MG – ELITE Positive Control (CTR401ING)
 X 4	 X 3
R/MG PCR Mix 4 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 48 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles per tube	R/MG Positive Control 3 tubes of 160 µL 4 reactions per tube 12 reactions per kit 4 freeze-thaw cycles
Maximum shelf-life: 24 months	Maximum shelf-life: 24 months
Storage temperature: ≤ -20°C	Storage temperature: ≤ -20°C

Other products required not provided in the kit

- | | |
|--|--|
| › ELITE InGenius instrument: INT030. | › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000. |
| › ELITE BeGenius instrument: INT040. | › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. |
| › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. | › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118. |
| › ELITE InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. | › CPE - Internal Control: CTCPE. |
| › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. | |

ELITE InGenius and ELITE BeGenius protocol

› Sample volume	200 µL	› Eluate PCR input volume	20 µL
› CPE volume	10 µL	› R/MG PCR Mix volume	20 µL
› Total elution volume	100 µL	› Frequency of controls	15 days

ELITe InGenius and ELITe BeGenius Performances

Matrix	Target	Limit of Detection	antibiotic-resistant Sensitivity in MG positive samples	antibiotic-resistant Specificity in MG positive samples	Specificity
first void urine collected without preservatives	MG	247 organisms / mL	100% ^(30/30)	100% ^(24/24)	100% ^(30/30)

Sample preparation

This product is intended for use on the **ELITe InGenius** and **ELITe BeGenius** with the following clinical specimens identified according to laboratory guidelines, and collected, transported, and stored under the following conditions.

Sample type	Transport/Storage conditions			
	+16 / +26 °C (room temperature)	+2 / +8 °C*	-20 ±10 °C	-70 ±15 °C
first void urine collected without preservatives	≤ 5 days	≤ 5 days	≤ 2 months	≤ 2 years

* Reference: G. L. Murray et al

ELITe InGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the Graphic User Interface of ELITe InGenius software to setup the run. All the steps: extraction, Real-Time PCR and result interpretation are automatically performed. Two operational modes are available: complete run (Extract + PCR) or PCR Only.

Before analysis

- Switch on ELITe InGenius. Log in with username and password. Select the mode "CLOSED".
- Verify controls: **R_MG Positive Control** and **R_MG Negative Control** in the "Controls" menu. *Note: Both must have been run, approved and not expired.*
- Thaw the **R/MG PCR Mix** and the **CTRPE** tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.

Procedure 1 - Complete run: Extract + PCR (e.g., samples)

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITe_U_200_100	5. Select the method "Extract + PCR" and the sample position: Extraction Tube	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette, Extraction cartridge, Elution tube, Tip Cassette, Extraction Tube racks	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

Note: If an Extract Only mode is needed, refer to the instrument user's manual for procedure.

Procedure 2: PCR Only (e.g., eluates, controls)

1. Select "Perform Run" on the touch screen	2. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", elution: "100 µL"	3. Scan the sample barcodes with hand-barcode reader or type the sample ID
4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITe_U_200_100 or R_MG ELITe_PC or R_MG ELITe_NC	5. Select the method "PCR Only" and the sample position "Elution Tube"	6. Load the PCR Mix in the Inventory Block
7. Load: PCR Cassette rack and the Elution tube rack with the extracted nucleic acid	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

ELITE BeGenius Procedures

The user is guided step-by-step by the Graphic User Interface of ELITE BeGenius software to setup the run. All the steps: extraction, Real-Time PCR and result interpretation are automatically performed. Two operational modes are available: complete run (Extract+PCR) or PCR Only .

Before analysis

1. Switch on ELITE BeGenius. Log in with username and password. Select the mode "CLOSED".	2. Verify controls R_MG Positive Control and R_MG Negative Control in the "Controls" menu. <i>Note: Both must have been run, approved and not expired.</i>	3. Thaw the R/MG PCR Mix and the CTRCPE tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.
---	--	--

Procedure 1 - Complete run: Extract + PCR (e.g., samples)

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract +PCR»	2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITE_Be_U_200_100 Note: if a second extraction is performed repeat steps from 2 to 4	5. Print the labels to barcode the empty elution tubes. Load the tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load the PCR Mix and the Internal Control in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit
7. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette" and the "Extraction Rack" with the "ELITE InGenius SP 200" extraction cartridges and the required extraction consumables	8. Close the door. Start the run	9. View, approve and store the results

Note: If an Extract Only mode is needed, refer to the instrument user's manual for procedure.

Procedure 2: PCR Only (e.g., eluates, controls)

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «PCR Only»	2. Load the extracted nucleic acid or controls barcoded tubes in the Elution Rack and insert it in the Cooler Unit"	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: R_MG ELITE_Be_U_200_100 or R_MG ELITE_Be_PC or R_MG ELITE_Be_NC	5. Load the PCR-Mix in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load "PCR Rack" with "PCR Cassette"
7. Close the door. Start the run	8. View, approve and store the results	