



REF RTS502ING

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS502ING



UDI 08033891487447

TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	page 1
PRINCIPE DU TEST	page 2
DESCRIPTION DU PRODUIT	page 2
MATÉRIEL FOURNI	page 3
MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	page 3
AUTRES PRODUITS REQUIS	page 3
AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	page 4
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	page 5
PROCÉDURE AVEC LE ELITE InGenius	page 7
PROCÉDURE AVEC LE ELITE BeGenius	page 12
CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE	page 15
BIBLIOGRAPHIE	page 25
LIMITES DE LA PROCÉDURE	page 25
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	page 26
LÉGENDE DES SYMBOLES	page 29
AVIS AUX UTILISATEURS	page 30
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	page 30
ANNEXE : GUIDE DE DÉMARRAGE RAPIDE	page A

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 multiplexe de PCR en temps réel 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 intégrés et automatisés d'extraction, de PCR en temps réel et d'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*.

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

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.

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 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 les augmentations 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 **GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit** fournit le réactif du test, le **GI-B PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amorces 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 (**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 **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.

MATÉRIEL FOURNI

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
GI-B PCR Mix réf. RTS502ING	Mélange de réactifs pour la PCR en temps réel, tube doté d'un capuchon BLANC	8 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).
- Thermomixer.
- 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.

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 (ELITechGroup S.p.A., EG SpA, réf. INT030).</p> <p>ELiTe InGenius Software version 1.3.0.17 (ou versions ultérieures).</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_PC, protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif.</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_NC, protocole de test contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif.</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_ST_200_100, protocole de test contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de selles.</p>	<p>ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, réf. INT032SP200). ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, réf. INT032CS).</p> <p>ELiTe InGenius PCR Cassette (EG SpA, réf. INT035PCR).</p> <p>ELiTe InGenius Waste Box (EG SpA, réf. F2102-000).</p> <p>300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., réf. TF-350-L-R-S), avec le ELiTe InGenius uniquement.</p> <p>1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Suisse, réf. 30180118) avec le ELiTe BeGenius uniquement.</p> <p>CPE - Internal Control (EG SpA, réf. CTRCPE)</p> <p>GI Bacterial PLUS - ELiTe Positive Control (EG SpA, réf. CTR502ING)</p> <p>InhibitEX Buffer (QIAGEN GmBH, Allemagne, réf. 19593) ou dispositif équivalent.</p> <p>Minutip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italie, réf. 518CS01) ou dispositif équivalent.</p> <p>FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italie, réf. 470CE,) ou dispositif équivalent avec milieu Cary-Blair.</p>
<p>ELiTe BeGenius (EG SpA, réf. INT040).</p> <p>ELiTe BeGenius Software version 2.1.0 (ou versions ultérieures).</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_PC, protocole de test contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif.</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_NC, protocole de test contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif.</p> <p>GI Bacterial PLUS ELiTe_Be_ST_200_100, protocole de test contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de selles.</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 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 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 cassettes de PCR (PCR Cassette) 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)
GI-B 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 instruments **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 :

Échantillon	Exigences de prélèvement	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	≤ 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 :

- transférer 1 mL de tampon InhibitEX Buffer dans un tube Sarstedt de 2 mL,
- 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,
- 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,
- jeter l'écouvillon et fermer le capuchon du tube,
- agiter au vortex pendant environ 60 s,
- incubé dans un thermomixer à environ +80 °C et environ 800 RPM pendant 10 minutes,
- centrifuger à 10 000 RCF pendant 15 s,
- 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:

- transférer 500 µL de tampon InhibitEX Buffer dans un tube Sarstedt de 2 mL,
- transférer 500 µL d'échantillon en suspension depuis le milieu FecalSwab dans le tube Sarstedt de 2 mL contenant le tampon InhibitEX Buffer,
- boucher fermement le tube et agiter au vortex pendant environ 60 s,
- incubé dans un thermomixer à environ +80 °C et environ 800 RPM pendant 10 minutes,

- centrifuger à 10 000 RCF pendant 15 s,
- 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 kits ELITE MGB et le **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** avec les matrices indiquées.

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 initial: 200 µL Volume d'éluion extrait: 100µL Contrôle Interne: 10 µL Sonication: NON Facteur de dilution: 1 Volume de PCR Mix: 20 µL Volume initial de l'échantillon PCR: 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).

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 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 **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 Contrôle négatif, 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**.

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,
- l'instrument **ELITE InGenius** ou **ELITE BeGenius** subit une procédure de maintenance ou d'entretien majeure.

Contrôles de qualité

La vérification de la procédure d'extraction et de PCR est recommandée. 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 **GI Bacterial PLUS 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 uniquement]),
		C) Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR uniquement]).
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 (**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 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 **GI Bacterial PLUS 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 uniquement]),
- C. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR uniquement]).

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 système **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. Pour plus de détails, voir le manuel de l'instrument.

Avant de paramétrer 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.

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 uniquement])	C. Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR uniquement])
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 doivent être transférés dans un tube d'extraction préalablement étiqueté.	Décongeler les tubes d'éluion 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.	n.a.	Préparer le Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologique moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'éluion) fourni avec le ELITE InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
4	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion extrait) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion extrait) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion extrait) 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.	n.a.
6	Sélectionner le protocole de test dans la colonne « Assay » (Test) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le protocole de test dans la colonne « Assay » (Test) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le protocole de test dans la colonne « Assay » (Test) (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 biologique moléculaire.
7	Vérifier que le « Protocol » (Protocole) affiché est : « Extract + PCR » (Extraction + PCR).	Sélectionner « PCR Only » (PCR uniquement) dans la colonne « Protocol » (Protocole).	Vérifier que « PCR Only » (PCR uniquement) 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'éluion [ligne inférieure]).	Vérifier que la position de chargement de l'échantillon dans la colonne « Sample Position » (Position échantillons) est « Elution Tube (bottom row) » (Tube d'éluion [ligne inférieure]).
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 » (Bloc inventaire) en se reportant à la « Load List » (Liste de chargement) 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 » (Bloc inventaire) en se reportant à la « Load List » (Liste de chargement) 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 » (Bloc inventaire) en se reportant à la « Load List » (Liste de chargement) et saisir le numéro de lot du PCR Mix, la date de péremption et le nombre de réactions pour chaque tube.

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS502ING

11	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.
12	Vérifier les cônes dans les « Tip Racks » (Portoirs de cônes) de la « Inventory Area » (Zone inventaire) et remplacer les portoirs de cônes si nécessaire.	Vérifier les cônes dans les « Tip Racks » (Portoirs de cônes) de la « Inventory Area » (Zone inventaire) et remplacer les portoirs de cônes si nécessaire.	Vérifier les cônes dans les « Tip Racks » (Portoirs de cônes) de la « Inventory Area » (Zone inventaire) et remplacer les portoirs de cônes si nécessaire.
13	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.
14	Charger la cassette de PCR, les ELITE InGenius SP 200, et tous les consommables requis et échantillons à extraire.	Charger la cassette de PCR et le tube d'éluion avec les échantillons extraits.	Charger la cassette de PCR et les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif.
15	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » 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 » (Démarrer).	Appuyer sur « Start » (Démarrer).	Appuyer sur « Start » (Démarrer).

Lorsque la session d'analyse est terminée, le **ELITE InGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats et 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 tout déversement de 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 tout déversement du **Contrôle positif**. Le **Contrôle négatif** restant doit être jeté.

Remarque : le **GI-B Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

Remarque : à la fin de l'analyse, le **PCR Cassette** et les consommables doivent être éliminés conformément à toutes les réglementations gouvernementales et environnementales. Éviter de renverser les produits de 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 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]). Pour plus de détails, voir le manuel de l'instrument.

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. Pour plus de détails, voir le manuel de l'instrument.

Le **ELITE InGenius** génère les résultats à l'aide du **GI Bacterial PLUS 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 les cibles des réactions du Contrôle positif et du Contrôle négatif avec les paramètres des protocoles de test (Assay Protocols) **GI Bacterial PLUS ELITE_PC** et **GI Bacterial PLUS ELITE_NC**. Les valeurs Ct et de Tm résultantes sont

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS502ING

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]). Ils peuvent être visualisés et approuvés 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 **logiciel ELITE InGenius** pour paramétrer les graphiques de contrôle surveillant l'exécution des étapes d'amplification. Pour plus de détails, voir le manuel de l'instrument.

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 les cibles (canaux **Cam**, **Cdif**, **Sal**, **Shi** et **Yen**) et le Contrôle interne (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.

1) Contrôle positif	Statut
GI-B Positive Control	APPROUVÉ
2) Contrôle négatif	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. Les messages de résultat possibles sont répertoriés dans le tableau ci-dessous.

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

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
Cam:DNA Detected (Cam: ADN détecté).	L'ADN de l'espèce Campylobacter a été détecté dans l'échantillon.
Cdif:DNA Detected (Cdif: ADN détecté).	L'ADN de Clostridioïdes difficile a été détecté dans l'échantillon.
Cdif:DNA Detected Possible Ribotype 027 (Cdif : ADN détecté, possible ribotype 027)	L'ADN de Clostridioïdes difficile , possible ribotype 027, a été détecté dans l'échantillon.
Sal:DNA Detected (Sal: ADN détecté).	L'ADN de l'espèce Salmonella a été détecté dans l'échantillon.
Shi:DNA Detected (Shi: ADN détecté).	L'ADN de l'espèce Shigella a été détecté dans l'échantillon.
Yen:DNA Detected (Yen: ADN détecté).	L'ADN de Yersinia enterocolitica a été détecté dans l'échantillon.
Cam:DNA Not Detected or below the LoD (Cam : ADN non détecté ou inférieur à la LoD).	L'ADN de l'espèce Campylobacter n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de l'espèce Campylobacter 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 la LoD).	L'ADN de Clostridioïdes difficile n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de Clostridioïdes difficile 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 la LoD).	L'ADN de l'espèce Salmonella n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de l'espèce Salmonella 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 la LoD).	L'ADN de l'espèce Shigella n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de l'espèce Shigella ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
Yen:DNA Not Detected or below the LoD (Yen: ADN non détecté ou inférieur à la 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 pré-traitement, 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 uniquement). 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 »).

Les échantillons rapportés comme «Xxx:DNA Not Detected or below LoD» (Xxx : ADN non détecté ou inférieur à la 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 « Caractéristiques de performance »).

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 **GI Bacterial PLUS 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 uniquement]),
		C) Analyse du Contrôle positif et du Contrôle négatif (PCR Only [PCR uniquement]).
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 (**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 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 **GI Bacterial PLUS ELite MGB Kit** peut être utilisé sur le **ELITE BeGenius** pour les opérations suivantes :

- Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR uniquement]),
- Analyse des Contrôles positif et négatif (PCR only [PCR uniquement]).

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. Pour plus de détails, voir le manuel de l'instrument.

Avant de paramétrer 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.

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 uniquement])	C. Analyse des Contrôles positif et négatif (PCR Only [PCR uniquement])
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 doivent être transférés dans le tube Sarstedt de 2 mL préalablement étiqueté.	Si nécessaire, décongeler les tubes d'éluion 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.	n.a.	Préparer le Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'éluion) fourni avec le ELite InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).	Sélectionner « Perform Run » (Exécuter l'analyse) dans l'écran « Home » (Accueil).
4	Retirer tous les portoirs de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement) et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » (Portoirs) des « Lane 1, 2 and 3 » (Pistes 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement) et les placer sur la table de préparation.	Retirer les « Racks » (Portoirs) des « Lane 1, 2 and 3 » (Pistes 1, 2 et 3) (L1, L2, L3) de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement) et les placer sur la table de préparation.
5	Sélectionner le « Run mode » : « Extract + PCR »	Sélectionner le « Run mode » : « PCR Only »	Sélectionner le « Run mode » : « PCR Only »
6	Charger les échantillons dans le « Sample Rack » (Portoir d'échantillons). Lorsque des tubes secondaires « 2 mL Tubes » sont chargés, utiliser les adaptateurs bleus pour le « Sample Rack ».	Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Portoir d'éluion).	Charger les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif dans le « Elution Rack » (Portoir d'éluion).
7	Insérer le « Sample Rack » dans la « Cooler Unit », en commençant par la « Lane 5 » (Piste 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 ».	Insérer le « Elution Rack » dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement), en commençant par la « Lane 3 » (Piste 3) (L3). Si nécessaire, pour chaque position, saisir le « Sample ID » (ID de l'échantillon), la « Sample Matrix » (Matrice d'échantillon), le « Extraction kit » (Kit d'extraction) et le « Extracted eluate vol. » (Volume d'éluat extrait).	Insérer le « Elution Rack » dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement), en commençant par la « Lane 3 » (Piste 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 initial) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion extrait) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion extrait) est de 100 µL.	Vérifier que le « Extraction Input Volume » (Volume d'extraction initial) est de 200 µL et que le « Extracted Elute Volume » (Volume d'éluion extrait) est de 100 µL.
10	Sélectionner le protocole de test dans la colonne « Assay » (Test) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le protocole de test dans la colonne « Assay » (Test) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).	Sélectionner le protocole de test dans la colonne « Assay » (Test) (se reporter à la section « Échantillons et contrôles »).
11	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.
	Remarque : en cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6.		

	A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR])	B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR uniquement])	C. Analyse des Contrôles positif et négatif (PCR Only [PCR uniquement])
12	Charger les « Elution tubes » (Tubes d'éluion) dans le « Elution Rack » (Portoir d'éluion) (les tubes d'éluion peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité).	n.a.	n.a.
13	Insérer le « Elution Rack » (dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement), en commençant par la « Lane 3 » (Piste 3) (L3). En cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure en utilisant la « Lane 2 » (Piste 2) (L2).	n.a.	n.a.
14	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	n.a.	n.a.
15	Charger le CPE et le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Portoirs de réactifs/d'éluion).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Portoir de réactifs/d'éluion).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Portoir de réactifs/d'éluion).
16	Insérer le « Reagent/Elution Rack » dans la « Lane 2 » (Piste 2) (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (Piste 1) (L1) de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). 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 » dans la « Lane 2 » (Piste 2) (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (Piste 1) (L1) de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). 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 » dans la « Lane 2 » (Piste 2) (L2) si disponible, ou dans la « Lane 1 » (Piste 1) (L1) de la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement). 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 » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.
18	Vérifier les cônes dans les « Tip Racks » (Portoirs de cônes) de la « Inventory Area » (Zone inventaire) et remplacer les portoirs de cônes si nécessaire.	Vérifier les cônes dans les « Tip Racks » (Portoirs de cônes) de la « Inventory Area » (Zone inventaire) et remplacer les portoirs de cônes si nécessaire.	Vérifier les cônes dans les « Tip Racks » (Portoirs de cônes) de la « Inventory Area » (Zone inventaire) et remplacer les portoirs de cônes si nécessaire.
19	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.
20	Charger le « PCR Basket » (Panier de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone inventaire).	Charger le « PCR Basket » (Panier de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone inventaire).	Charger le « PCR Basket » (Panier de PCR) avec la « PCR Cassette » (Cassette de PCR) dans la « Inventory Area » (Zone inventaire).
21	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » pour poursuivre.
22	Charger le « Extraction Basket » (Panier d'extraction) avec les cartouches d'extraction « ELite InGenius SP 200 » et les consommables d'extraction requis.	n.a.	n.a.
23	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
24	Appuyer sur « Start » (Démarrer).	Appuyer sur « Start » (Démarrer).	Appuyer sur « Start » (Démarrer).

Au terme de la session d'analyse, le **ELITE BeGenius** permet aux utilisateurs de visualiser, d'approuver et de stocker les résultats, puis 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 tout déversement de 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 tout déversement du **Contrôle positif**. Le **Contrôle négatif** restant doit être jeté.

Remarque : le **GI-B Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

Remarque : à la fin de l'analyse, la **cassette de PCR** et les consommables doivent être éliminés conformément à toutes les réglementations gouvernementales et environnementales. Éviter de renverser les produits de 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 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]). Pour plus de détails, voir le manuel de l'instrument.

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. Pour plus de détails, voir le manuel de l'instrument.

L'instrument **ELITE BeGenius** génère les résultats à l'aide du produit **GI Bacterial PLUS 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.

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 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.

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 systèmes **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**.

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 matériels de référence de cultures bactériennes provenant de différents fournisseurs (DSMZ et ZeptoMetrix).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

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 (Yen : ADN détecté)
<i>Yersinia enterocolitica</i> sous-espèce <i>palaearctica</i>	6/6	Yen:DNA Detected (Yen : ADN détecté)

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

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.

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS502ING

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

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 d'autres 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). 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*.

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 et DSMZ).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Organisme	Positifs/Réplicats						Résultat
	Cdif	IC (CI)	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
<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

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.

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.

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit
réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS502ING

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

Tous les organismes potentiellement interférents testés n'ont montré aucune inhibition de l'amplification des cibles en utilisant le GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit.

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.

Substance	Positifs/Réplicats						Résultat
	Cdif	IC (CI)	Yen	Shi	Cam	Sal	
Huile de vaseline	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Nonoxonyl-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 l'opéramide	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
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.

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.

Substance	Positifs/Réplicats						Résultat
	Cdif	IC (CI)	Yen	Shi	Cam	Sal	
Huile de vaseline	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Nonoxynol-9	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Sous-salicylate de bismuth	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Chlorhydrate de l'opéramide	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Bisacodyl	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Azithromycine	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Vancomycine	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Métronidazole	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Ampicilline	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Céfpodoxime	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Ciprofloxacine	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Hydrocortisone	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Carbonate de calcium	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Acide alginique	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Hydroxyde d'aluminium	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Trisilicate de magnésium	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Sang total	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Mucine	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Acide palmitique	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Acide stéarique	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence

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

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.

Échantillons	N	Positifs	Négatifs	Concordance (%)
Positifs	60	60	0	100 %
Négatifs	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).

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.

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.

Répétabilité

La 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.

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

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

sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	CV (%)	Concordance (%)
Nég	Cdif (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	35,22	0,21	0,60	100 %
		Cdif (Tm)	12	59,3	0,26	0,45
Nég	Cam (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	32,59	0,38	1,15	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	CV (%)	Concordance (%)
Nég	Yen (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	34,88	0,40	1,15	100 %
3xLoD SS		12	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Nég	Sal (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	35,69	0,93	2,61	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %
Nég	Shi (Ct)	12	-	-	-	100 %
3xLoD CY		12	-	-	-	100 %
3xLoD SS		12	34,47	1,01	2,94	100 %
3xLoD Cdif		12	-	-	-	100 %

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

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

Reproductibilité

La 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

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	CV (%)	Concordance (%)
Nég	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif	Cdif (Tm)	36	35,08	0,35	1,01	100 %
		36	59,2	0,33	0,56	100 %
Nég	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	31,92	0,60	1,87	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	CV (%)	Concordance (%)
Nég	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	34,94	0,47	1,35	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
Nég		36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	35,71	0,85	2,37	100 %
3xLoD Cdif	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
Nég		36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	34,61	0,82	2,38	100 %
3xLoD 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.

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

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	CV (%)	Concordance (%)
Nég	Cdif (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	34,97	0,33	0,95	100 %
	Cdif (Tm)	36	59,1	0,28	0,48	100 %

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	CV (%)	Concordance (%)
Nég	Cam (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	32,29	0,44	1,36	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Yen (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	35,91	0,59	1,64	100 %
3xLoD SS		36	-	-	-	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %
Nég	Sal (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	36,05	0,81	2,24	100 %
3xLoD Cdif		36	-	-	-	100 %

Échantillon	Cible	N	Moyenne	EC	CV (%)	Concordance (%)
Nég	Shi (Ct)	36	-	-	-	100 %
3xLoD CY		36	-	-	-	100 %
3xLoD SS		36	34,75	1,29	3,71	100 %
3xLoD 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.

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

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 collectés 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.

Selles négatives testées pour la cible	N	Positifs	Négatifs	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.

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 système ELITE InGenius en analysant des échantillons cliniques de selles collectés sans conservateurs ou dans un milieu Cary-Blair, certifiés positifs pour chaque cible ou dopés avec des matériels de référence.

Étant donné que les performances analytiques du système ELITE BeGenius sont équivalentes à celles du système 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 système ELITE InGenius s'applique également au système ELITE BeGenius.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons de selles positifs/dopés	N	Positifs	Négatifs	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	

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.

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 GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit, FTP 502ING.

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
 K. Linnet et al. (2004) Clin. Chem. 50: 732 - 740.
 E. A. Lukhtanov et al. (2007) Nucleic Acids Res. 35: e30

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 d'une identification, d'une collecte, d'un transport, de la conservation et d'un 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 l'utilisation d'équipements de protection individuelle et de zones adaptées au traitement d'échantillons biologiques potentiellement infectieux et de préparations chimiques classées comme dangereuses pour prévenir les accidents aux conséquences potentiellement graves pour l'utilisateur et les autres personnes.

Ce produit exige l'utilisation d'équipements de protection individuelle et d'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 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 davantage réduit. 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 le volume 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 inventaire]) ou dans l'unité de refroidissement). 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 inventaire]) ou dans l'unité de refroidissement). 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 l'unité de refroidissement). 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 le volume du PCR Mix et du Contrôle négatif
Contamination du Contrôle négatif.	Ne pas utiliser le Contrôle négatif pour plus d'une (1) seule 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 portoirs, du « Inventory Block » (Bloc inventaire) ou de l'unité de refroidissement.	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 Contrôle Interne et de l'échantillon. Vérifier les volumes du PCR Mix, du Contrôle Interne 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 inventaire]) ou dans l'unité de refroidissement). 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 inventaire]) ou dans l'unité de refroidissement). Ne pas laisser le PCR Mix à température ambiante pendant plus de 30 minutes. Préparer de nouvelles aliquotes de 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 uniquement). 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.	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 piste 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 uniquement). - répéter l'extraction de l'échantillon pré-traité 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

REF

Numéro de référence.



Limite supérieure de température.

LOT

Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).

IVD

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.



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

UDI

Identifiant unique de dispositif



Contenu suffisant pour « N » tests.



Attention, consulter le mode d'emploi.

CONT

Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

AVIS AUX UTILISATEURS

Tout incident grave lié au dispositif doit être signalé au fabricant ainsi qu'à l'autorité compétente de l'état membre dans lequel réside l'utilisateur et/ou le patient. Au moment de la révision actuelle du mode d'emploi, aucun incident grave ou rappel ayant un impact sur la performance du produit et la sécurité du dispositif n'a été signalé.

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 des brevets américains numéros 6972339, 7112684, 7319022, 7348146, 7381818, 7541454, 7582739, 7601851, 7671218, 7718374, 7723038, 7759126, 7767834, 7851606, 8008522, 8067177, 8163910, 8389745, 8569516, 8969003, 9056887, 9085800, 9169256, 9328384, 10677728, 10738346, 10890529 et par les brevets EP numéros 1430147, 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 de licence n'accordent d'autres licences, expresses ou implicites, à toute autre fin.

MGB®, Eclipse Dark Quencher®, AquaPhluor®, ELITE MGB®, le logo ELITE MGB®, ELITE InGenius® et 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 de commerce de COPAN Italia S.p.A.

GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit

used in association with Genius series® platforms

Ref: RTS502ING



⚠ 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 **GI Bacterial PLUS ELITE MGB® Kit** is an *in vitro* diagnostic medical device intended to be used by healthcare professionals as qualitative multiplex nucleic acids Real-Time PCR assay for the detection and identification of the genomic DNA of *Campylobacter* spp. (Cam), *Clostridium difficile* (also known as *Clostridioides difficile*, Cdif), including discrimination of ribotype 027, *Salmonella* spp. (Sal), *Shigella* spp. (Shi), *Yersinia enterocolitica* (Yen) extracted from clinical specimens.

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 stool specimens. The product is intended for use as an aid in the diagnosis of gastrointestinal bacterial infections in patients suspected of having *Campylobacter* spp., *Clostridium difficile*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. and *Yersinia enterocolitica* infection.

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

The product is not intended for use as an aid in the diagnosis of enteric fever and is not intended for use as an aid in the identification of *Salmonella enterica* serovar Typhi (also known as *Salmonella typhi*) for the assessment of the carrier-status of patients.

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	16s rRNA	AP639	Cam
Target 2	tcdB	FAM	Cdif
Target 3	invA	AP690	Sal
Target 4	ipaH	AP593	Shi
Target 5	foxA	AP559	Yen
Internal Control	IC2	AP525	IC

Validated matrix

- › Native stool collected without preservatives
- › Stool collected in Fecal Swab (Modified Cary Blair medium)

Kit content and related products

GI Bacterial PLUS ELITE MGB Kit (RTS502ING)		GI Bacterial PLUS - ELITE Positive Control (CTR502ING)	
 X 8		 X 3	
GI-B PCR Mix 8 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles per tube		GI-B 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

- | | |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> › ELITE InGenius instrument: INT030. › ELITE BeGenius instrument: INT040. › ELITE InGenius SP 200: INT032SP200. › ELITE InGenius SP200 Consumable Set: INT032CS. › ELITE InGenius PCR Cassette: INT035PCR. › ELITE InGenius Waste Box: F2102-000. › 300 µL Filter Tips Axigen: TF-350-L-R-S. › 1000 µL Filter Tips Tecan: 30180118. | <ul style="list-style-type: none"> › CPE - Internal Control: CTRCPE › InhibitEX Buffer (QIAGEN GmBH, Germany, ref. 19593) or an equivalent device. › Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 518CS01) or an equivalent device. › FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italy, ref. 470CE,) or an equivalent device. |
|--|--|

ELITE InGenius and ELITE BeGenius Protocol

› Sample volume	200 µL	› Eluate PCR input volume	20 µL
› CPE volume	10 µL	› GI-B 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	Sensitivity	Specificity
Native Stool / Stool collected in FecalSwab	Cam	72 CFU / mL	100% ^(100/100)	99.6% ^(266/267)
	Cdif	172 CFU / mL	96.3% ^(52/54)	99.3 % ^(291/293)
	Sal	372 CFU / mL	100% ^(56/56)	99.4 % ^(312/314)
	Shi	337 CFU / mL	100% ^(53/53)	100 % ^(338/338)
	Yen	363 CFU / mL	100% ^(51/51)	99.4 % ^(330/332)

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
Native stool collected without preservatives	≤ 24 hours	≤ 48 hours	≤ 1 month	≤ 2 months
Stool collected in Fecal Swab (Modified CaryBlair medium)	≤ 48 hours	≤ 5 days	≤ 1 month	≤ 2 months

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: **GI-B Positive Control** and **GI-B Negative Control** in the "Controls" menu.
Note: Both must have been run, approved and not expired.
- Thaw the **GI-B 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	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: GI Bacterial PLUS ELITE_ST_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: GI Bacterial PLUS ELITE_ST_200_100 or GI Bacterial PLUS ELITE_PC or GI Bacterial PLUS 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: GI-B Positive Control and GI-B Negative Control in the "Controls" menu. <i>Note:</i> Both must have been run, approved and not expired.	3. Thaw the GI-B 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 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: GI Bacterial PLUS ELITE_Be_ST_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 Basket" with "PCR Cassette" and the "Extraction Basket" 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

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: GI Bacterial PLUS ELITE_Be_ST_200_100 or GI Bacterial PLUS ELITE_Be_PC or GI Bacterial PLUS ELITE_Be_NC	5. Load the PCR-Mix in the Reagent/Elution Rack and insert it in the Cooler Unit	6. Load "PCR Basket" with "PCR Cassette"
7. Close the door. Start the run	8. View, approve and store the results	