



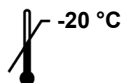
GI Parasitic PLUS ELITE MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS503ING



0123



UDI 08033891487461

TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	page 1
PRINCIPE DU TEST	page 2
DESCRIPTION DU PRODUIT	page 2
MATÉRIEL FOURNI	page 2
MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	page 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 27
LIMITES DE LA PROCÉDURE	page 27
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	page 28
LÉGENDE DES SYMBOLES	page 31
AVIS AUX UTILISATEURS	page 31
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	page 32
ANNEXE : GUIDE DE DÉMARRAGE RAPIDE	page A

APPLICATION

Le produit **GI Parasitic 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 *Giardia lamblia* (**Gla**) (alias *Giardia intestinalis*), l'espèce *Cryptosporidium* (**Cry**), *Entamoeba histolytica* (**Ehis**), l'espèce *Encephalitozoon* (**Enc**) et *Enterocytozoon bieneusi* (**Ent**).

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 parasitaires gastro-intestinales chez les patients suspectés de présenter une infection par *Giardia lamblia*, l'espèce *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*, *Enterocytozoon bieneusi* et l'espèce *Encephalitozoon*.

GI Parasitic PLUS ELITE MGB® Kit

réactifs de PCR en temps réel de l'ADN

REF RTS503ING

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

PRINCIPE DU TEST

Le test est une PCR qualitative en temps réel qui détecte les ADN de *Giardia lamblia*, l'espèce *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*, *Enterocytozoon bieneusi* et l'espèce *Encephalitozoon*, isolés à partir d'échantillons et amplifiés à l'aide du réactif du test **GI-P PCR Mix** qui contient des amorces et des sondes dotées de la technologie ELITE MGB.

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

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 Parasitic PLUS ELITE MGB Kit** fournit le réactif du test, le **GI-P PCR Mix**, un mélange de PCR optimisé et stabilisé qui contient les amorces et les sondes spécifiques pour :

- le gène de l'ARNr de type **16s** de *Giardia lamblia*, détecté dans le Canal **Gla** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher® et marquée par le colorant FAM,
- le gène de l'ARNr **18s** de l'espèce *Cryptosporidium*, détecté dans le Canal **Cry** ; 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 de l'ARNr **18s** de *Entamoeba histolytica*, détecté dans le Canal **Ehis** ; 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 de l'ARNr **16s** de l'espèce *Encephalitozoon*, détecté dans le Canal **Enc** ; la sonde est stabilisée par le groupe MGB, désactivée par le désactivateur Eclipse Dark Quencher et marquée par le colorant AquaPhluor 690 (AP690),
- la région **ITS** d'*Enterocytozoon bieneusi*, détectée dans le Canal **Ent** ; 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 mélange **GI-P PCR Mix** contient également un tampon, du chlorure de magnésium, des nucléotides triphosphates, l'enzyme ADN polymérase avec activation thermique (Hot start).

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

MATÉRIEL FOURNI

Composant	Description	Quantité	Classification des risques
GI-P PCR Mix réf. RTS503ING	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 :

Instruments et logiciels	Produits et réactifs
ELiTe InGenius (EG SpA, réf. INT030).	ELiTe InGenius SP200 (EG SpA, réf. INT032SP200).
ELiTe InGenius Software version 1.3.0.17 (ou versions ultérieures).	ELiTe InGenius SP 200 Consumable Set (EG SpA, réf. INT032CS).
GI Parasitic PLUS ELiTe_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif.	ELiTe InGenius PCR Cassette (EG SpA, réf. INT035PCR).
GI Parasitic PLUS ELiTe_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif.	ELiTe InGenius Waste Box (EG SpA, réf. F2102-000).
GI Parasitic PLUS ELiTe_ST_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de selles.	300 µL Filter Tips Axygen (Corning Life Sciences Inc., réf. TF-350-L-R-S), avec le ELiTe InGenius uniquement.
ELiTe BeGenius (EG SpA, réf. INT040).	1000 µL Filter Tips Tecan (Tecan, Suisse, réf. 30180118), avec le ELiTe BeGenius uniquement.
ELiTe BeGenius Software version 2.1.0 (ou versions ultérieures).	CPE - Internal Control (EG SpA, réf. CTCRPE).
GI Parasitic PLUS ELiTe_Be_PC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle positif.	GI Parasitic PLUS - ELiTe Positive Control (EG SpA, réf. CTR503ING).
GI Parasitic PLUS ELiTe_Be_NC , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse du Contrôle négatif.	InhibitEX Buffer (QIAGEN GmbH, Allemagne, réf. 19593) ou dispositif équivalent.
GI Parasitic PLUS ELiTe_Be_ST_200_100 , protocole de test (Assay Protocol) contenant les paramètres pour l'analyse des échantillons de selles.	Minitip Flocked Swab® (COPAN Italia S.p.A., Italie, réf. 518CS01) ou dispositif équivalent.
	FecalSwab™ (COPAN Italia S.p.A., Italie, réf. 470CE,) ou dispositif équivalent avec milieu Cary-Blair.

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, ni boire, ni fumer, ni appliquer de produits cosmétiques dans les zones de travail.

Se laver soigneusement les mains après toute manipulation des échantillons et des réactifs.

Éliminer les réactifs restants et les déchets conformément aux réglementations en vigueur.

Lire attentivement toutes les instructions indiquées avant d'exécuter le test.

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

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

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

Ne pas utiliser de réactifs provenant de lots différents.

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

Avertissements et précautions pour la biologie moléculaire

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

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

Les échantillons doivent être adaptés et, si possible, dédiés à ce type d'analyse. Les échantillons doivent être manipulés sous une hotte à flux laminaire. Les pipettes utilisées pour manipuler les échantillons doivent être exclusivement utilisées à cette fin spécifique. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou doivent être utilisées avec des cônes dotés d'un filtre pour les aérosols. Les cônes utilisés doivent être stériles, exempts de DNases et de RNases, et exempts d'ADN et d'ARN.

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

Les produits d'extraction doivent être manipulés de manière à réduire la dispersion dans l'environnement afin d'éviter tout risque de contamination.

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

Avertissements et précautions spécifiques pour les composants

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

* avec congélation intermédiaire

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

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

Échantillon	Exigences de prélèvement	Conditions de transport/conservation			
		+16/+26 °C (température ambiante)	+2/+8 °C	-20 ± 10 °C	-70 ± 15 °C
Selles natives	collectée 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 tr/min pendant 10 minutes,

- centrifuger à 10 000 tr/min 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 Parasitic 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 Parasitic PLUS ELiTe_ST_200_100	Positif/ Négatif	Volume d'extraction initial : 200 µL Volume d'élution extrait : 100 µL 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 Parasitic 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 Parasitic PLUS - ELiTe Positive Control** (non inclus dans ce kit) avec les protocoles de test (Assay Protocols) **GI Parasitic PLUS ELiTe_PC** ou **GI Parasitic 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 Parasitic PLUS ELiTe_NC** ou **GI Parasitic 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,
- le **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 Parasitic 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-P Positive Control**, **GI-P Negative Control**) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de **GI-P PCR Mix** à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de **GI-P 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 Parasitic 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 **ELiTe InGenius** peut être connecté au « Laboratory Information System » (système de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet de télécharger les informations relatives à la session d'analyse. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

Avant de paramétrer une analyse :

Décongeler les tubes de **GI-P 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'élution contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	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 biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élution) 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'élution 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'élution 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'élution 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 biologie 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'élution [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'élution [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 et la date de péremption du PCR Mix ainsi que le nombre de réactions pour chaque tube.
11	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.

12	Vérifier les 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 » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
14	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR), les cartouches d'extraction ELITE InGenius SP 200, et tous les consommables requis et échantillons à extraire.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et le tube d'élution avec les échantillons extraits.	Charger la PCR Cassette (Cassette de PCR) et les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif.
15	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
16	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.	Fermer le tiroir de l'instrument.
17	Appuyer sur « Start » (Démarrer).	Appuyer sur « Start » (Démarrer).	Appuyer sur « Start » (Démarrer).

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

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

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 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-P Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

Remarque : à la fin de l'analyse, la **PCR Cassette** (Cassette de PCR) et les 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]). Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

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

Le **ELITE InGenius** génère les résultats à l'aide du **GI Parasitic 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 Parasitic PLUS ELITE_PC** et **GI Parasitic PLUS ELITE_NC**. Les valeurs Ct et de Tm résultantes sont

utilisées pour vérifier le système (lot de réactifs et instrument).

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

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

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

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

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

B. Validation des résultats de l'échantillon

Le **ELITE InGenius software** interprète les résultats de la PCR pour les cibles (canaux **Gla**, **Cry**, **Ehis**, **Enc** et **Ent**) et le Contrôle interne (Canal **IC**) avec les paramètres du protocole de test (Assay Protocol) **GI Parasitic 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-P Positive Control	APPROUVÉ
2) Contrôle négatif	Statut
GI-P Negative Control	APPROUVÉ

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

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

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
Gla:DNA Detected (Gla : ADN détecté)	L'ADN de <i>Giardia lamblia</i> a été détecté dans l'échantillon.
Cry:DNA Detected (Cry : ADN détecté)	L'ADN de l'espèce <i>Cryptosporidium</i> a été détecté dans l'échantillon.
Ehis:DNA Detected (Ehis : ADN détecté)	L'ADN d'<i>Entamoeba histolytica</i> a été détecté dans l'échantillon.
Enc:DNA Detected (Enc : ADN détecté)	L'ADN de l'espèce <i>Encephalitozoon</i> a été détecté dans l'échantillon.
Ent:DNA Detected (Ent : ADN détecté)	L'ADN d'<i>Enterocytozoon bieneusi</i> a été détecté dans l'échantillon.
Gla:DNA Not Detected or below the LoD (Gla : ADN non détecté ou inférieur à la LoD)	L'ADN de <i>Giardia lamblia</i> n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de <i>Giardia lamblia</i> ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Cry:DNA Not Detected or below the LoD (Cry : ADN non détecté ou inférieur à la LoD)	L'ADN de l'espèce <i>Cryptosporidium</i> n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de l'espèce <i>Cryptosporidium</i> ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Ehis:DNA Not Detected or below the LoD (Ehis : ADN non détecté ou inférieur à la LoD)	L'ADN d'<i>Entamoeba histolytica</i> n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de <i>Entamoeba histolytica</i> ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.

Résultat de l'analyse de l'échantillon	Interprétation
Enc:DNA Not Detected or below the LoD (Enc : ADN non détecté ou inférieur à la LoD)	L'ADN de l'espèce <i>Encephalitozoon</i> n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de l'espèce <i>Encephalitozoon</i> ou sa concentration est inférieure à la limite de détection du test.
Ent:DNA Not Detected or below the LoD (Ent : ADN non détecté ou inférieur à la LoD)	L'ADN d' <i>Enterocytozoon bieneusi</i> n'a pas été détecté dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour l'ADN de <i>Enterocytozoon bieneusi</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 Parasitic 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-P Positive Control, GI-P Negative Control) sont approuvés et valides (Status [Statut]) pour le lot de PCR Mix à utiliser. Si aucun contrôle de PCR valide n'est disponible pour le lot de GI-P 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 Parasitic PLUS ELiTe MGB Kit peut être utilisé sur le ELiTe BeGenius pour les opérations suivantes :

- A. Analyse d'échantillons (Extract + PCR [Extraction + PCR]),
- B. Analyse d'échantillons élués (PCR Only [PCR 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 ELiTe BeGenius peut être connecté au « Laboratory Information System » (système de gestion des informations de laboratoire - LIS) qui permet de télécharger les informations relatives à la session d'analyse. Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

Avant de paramétrer une analyse :

Décongeler les tubes de GI-P 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 Sarstedt de 2 mL préalablement étiqueté.	Si nécessaire, décongeler les tubes d'élué contenant les acides nucléiques extraits à température ambiante. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.	Décongeler les tubes de Contrôle positif à température ambiante pendant 30 minutes. Chaque tube permet d'effectuer 4 réactions. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré.
2	Décongeler les tubes de CPE nécessaires à température ambiante pendant 30 minutes. Mélanger délicatement, centrifuger le contenu pendant 5 secondes puis conserver les tubes sur de la glace ou dans un bloc réfrigéré. Chaque tube permet d'effectuer 12 extractions.	n.a.	Préparer le Contrôle négatif en transférant au minimum 50 µL d'eau de qualité biologie moléculaire dans un « Elution tube » (Tube d'élué) fourni avec le ELite InGenius SP 200 Consumable Set.
3	Sélectionner « Perform Run » (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 » (Extraction + PCR).	Sélectionner le « Run mode » : « PCR Only » (PCR uniquement).	Sélectionner le « Run mode » : « PCR Only » (PCR uniquement).
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 » (Portoir d'échantillons).	Charger les échantillons dans le « Elution Rack » (Portoir d'élué).	Charger les tubes de Contrôle positif et de Contrôle négatif dans le « Elution Rack » (Portoir d'élué).
7	Insérer le Sample Rack (Portoir d'échantillons) dans la « Cooler Unit » (Unité de refroidissement), 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 » [ID échantillon]).	Insérer le « Elution Rack » (Portoir d'élué) 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'élué extrait).	Insérer le « Elution Rack » (Portoir d'élué) 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'élué 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'élué 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'élué extrait) est de 100 µL.

	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])
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 » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.
	Remarque : en cas de traitement de plus de 12 échantillons, répéter la procédure à partir du point 6.		-
12	Charger les « Elution tubes » (Tubes d'élué) dans le « Elution Rack » (Portoir d'élué) (les tubes d'élué peuvent être étiquetés avec un code-barres pour améliorer la traçabilité).	n.a.	n.a.
13	Insérer le « Elution Rack » (Portoir d'élué) 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 » (Suivant) pour poursuivre.	n.a.	n.a.
15	Charger le CPE et le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Portoir de réactifs/d'élué).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Portoir de réactifs/d'élué).	Charger le PCR Mix dans le « Reagent/Elution Rack » (Portoir de réactifs/d'élué).
16	Insérer le « Reagent/Elution Rack » (Portoir de réactifs/d'élué) 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 » (Portoir de réactifs/d'élué) 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 » (Portoir de réactifs/d'élué) 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 » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) 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 » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) 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 » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) pour poursuivre.	Cliquer sur « Next » (Suivant) 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, 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-P Positive Control** peut être utilisé pendant 4 sessions d'analyse distinctes de 3 heures chacune.

Remarque : à la fin de l'analyse, la **PCR Cassette** (Cassette de PCR) et les 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]). Se reporter au manuel de l'instrument pour plus de détails.

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

Le **ELITE BeGenius** génère les résultats à l'aide du **GI Parasitic 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 *Giardia lamblia*, l'espèce *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*, l'espèce *Encephalitozoon* et *Enterocytozoon bieneusi* (Microbix, ZeptoMetrix et ADN plasmidiques d'EG SpA).

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 %.

Remarque : La LoD pour les cibles *E. intestinalis* et *E. bieneusi* a été calculée en copies/mL en raison de l'utilisation d'ADN plasmidiques à titre de matériel de référence.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Agent pathogène	LoD	Limites de l'intervalle de confiance à 95 %	
		Limite inférieure	Limite supérieure
<i>Giardia lamblia</i>	35 org/mL	22 org/mL	93 org/mL
<i>Cryptosporidium parvum</i>	176 org/mL	135 org/mL	280 org/mL
<i>Entamoeba histolytica</i>	390 org/mL	291 org/mL	619 org/mL
<i>Encephalitozoon intestinalis</i>	231 copies/mL	153 copies/mL	459 copies/mL
<i>Enterocytozoon bieneusi</i>	101 copies/mL	77 copies/mL	175 copies/mL

La valeur de LoD calculée a été vérifiée sur les **ELITE BeGenius** et **ELITE InGenius** en testant des échantillons de selles natives et des échantillons de selles collectés dans un milieu FecalSwab dopés avec un matériel de référence de *Giardia lamblia*, l'espèce *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*, l'espèce *Encephalitozoon* et *Enterocytozoon bieneusi* à la concentration revendiquée.

Les résultats obtenus ont confirmé la concentration revendiquée pour toutes les cibles du **GI Parasitic 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 *Giardia lamblia*, l'espèce *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*, l'espèce *Encephalitozoon* et *Enterocytozoon bieneusi*, a été évaluée par une analyse *in silico*. L'analyse a montré une conservation des séquences et une absence de mutations significatives, à la seule exception du génotype de type WR5 d'*E. bieneusi*. En conséquence, on s'attend à ce que la plupart des souches ou isolats soient efficacement détectés.

L'inclusivité a également été vérifiée par l'analyse de 15 matériels de référence de cultures parasitaires provenant de différents fournisseurs (ZeptoMetrix, Vircell, ATCC et ADN plasmidiques).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Description	souche	Résultat
<i>G. lamblia</i>	Portland-1	Gla:DNA Detected (Gla : ADN détecté)
	WB clone C6	Gla:DNA Detected (Gla : ADN détecté)
	souche H3	Gla:DNA Detected (Gla : ADN détecté)
<i>C. parvum</i>	Tyzer	Cry:DNA Detected (Cry : ADN détecté)
	Isolat bovin	Cry:DNA Detected (Cry : ADN détecté)
<i>C. hominis</i>	Morgan-Ryan	Cry:DNA Detected (Cry : ADN détecté)
<i>E. histolytica</i>	HM-1:IMSS	Ehis:DNA Detected (Ehis : ADN détecté)
	DS4-868	Ehis:DNA Detected (Ehis : ADN détecté)
<i>E. intestinalis</i>	CDC:V297	Enc:DNA Detected (Enc : ADN détecté)
<i>E. hellem</i>	Didier	Enc:DNA Detected (Enc : ADN détecté)
<i>E. cuculi</i>	Stewart	Enc:DNA Detected (Enc : ADN détecté)
<i>E. bieneusi</i>	génotype B	Ent:DNA Detected (Ent : ADN détecté)
<i>E. bieneusi</i>	génotype S9	Ent:DNA Detected (Ent : ADN détecté)
<i>E. bieneusi</i>	génotype C	Ent:DNA Detected (Ent : ADN détecté)
<i>E. bieneusi</i>	génotype WR5	Ent:DNA Not Detected (Ent : ADN non détecté)

Tous les réplicats des souches, génotypes ou espèces testés pour les cinq cibles d'intérêt ont été correctement détectés à l'exception du génotype de type WR5 d'*E. bieneusi*. Toutefois, le génotype de type WR5 d'*E. bieneusi* est principalement détecté chez les animaux sauvages.

Le produit **GI Parasitic PLUS ELITE MGB Kit** permet de différencier *Encephalitozoon intestinalis* des deux autres espèces (*E. cuculi* et *E. hellem*) via l'analyse de la température de fusion. Les intervalles de Tm sont présentées dans le tableau suivant :

Description	Intervalle de Tm
<i>E. intestinalis</i>	≥ 64,5
<i>E. hellem</i>	< 64,5
<i>E. cuculi</i>	

Tous les échantillons ont été correctement détectés par le **GI Parasitic 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 *Giardia lamblia*, l'espèce *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*, l'espèce *Encephalitozoon* et *Enterocytozoon bieneusi* (ADN plasmidiques d'EG SpA).

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

Cible testée	Cible interférente à 2 500 000 copies/mL				
	Gla	Cry	Ehis	Ent	Enc
Gla	-	12 500 copies/mL	12 500 copies /mL	2 500 copies/mL	2 500 copies/mL
Cry	2 500 copies/mL	-	12 500 copies/mL	2 500 copies/mL	2 500 copies/mL
Ehis	2 500 copies/mL	2 500 copies/mL	-	2 500 copies/mL	2 500 copies/mL
Ent	2 500 copies/mL	5 000 copies/mL	5 000 copies/mL	-	2 500 copies/mL
Enc	2 500 copies/mL	2 500 copies/mL	5 000 copies/mL	2 500 copies/mL	-

Le GI Parasitic 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). On ne s'attend donc à aucune réactivité croisée.

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
	Gla	IC	Ent	Cry	Ehis	Enc	
<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>Helicobacter pylori</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>S. cerevisiae</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Entérovirus</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>	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
Espèce <i>Bifidobacterium</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>Proteus mirabilis</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Plesiomonas 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>Clostridium difficile</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée

Organisme	Positifs/Réplicats						Résultat
	Gla	IC	Ent	Cry	Ehis	Enc	
Espèce <i>Campylobacter</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Espèce <i>Salmonella</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Espèce <i>Shigella</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Adénovirus</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Astrovirus I</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Norovirus I</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Rotavirus</i>	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
<i>Sapovirus</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

Tous les organismes potentiellement interférents testés n'ont montré aucune réactivité croisée pour les cibles en utilisant le GI Parasitic 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 *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica*, *Encephalitozoon intestinalis* et *Enterocytozoon bieneusi* (ATCC et EG SpA).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Organisme	Positifs/Réplicats						Résultat
	Gla	IC	Ent	Cry	Ehis	Enc	
<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>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>Entérovirus</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>	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
Espèce <i>Bifidobacterium</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	0/5	0/5	5/5	Interférence
<i>Citrobacter freundii</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>Clostridium difficile</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Espèce <i>Campylobacter</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Espèce <i>Salmonella</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Espèce <i>Shigella</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence

Organisme	Positifs/Réplicats						Résultat
	Gla	IC	Ent	Cry	Ehis	Enc	
<i>Yersinia enterocolitica</i>	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 I	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Norovirus GI	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 nexile</i>	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence

La majorité des organismes potentiellement interférents testés n'a montré aucune inhibition de l'amplification des cibles en utilisant le GI Parasitic PLUS ELite MGB Kit, à l'exception de *Candida albicans*. L'amplification de 30 génomes des cibles Cry et Ehis a été altérée par la présence d'une grande quantité de génomes de *C. albicans*. Dans ce cas, les cibles Cry et Ehis ont généré des résultats positifs lorsque 200 génomes ont été amplifiés.

Pour étudier l'interférence de *C. albicans* sur la détection des cibles Cry et Ehis, des tests supplémentaires ont été effectués sur des échantillons de selles cliniques positifs pour *C. albicans*. Les résultats ont montré que 5 x la LoD de *C. parvum* (880 organismes/mL) et 3 x la LoD d'*E. histolytica* (1 170 organismes/mL) sont les concentrations les plus faibles pouvant être détectées par le GI Parasitic PLUS ELite MGB Kit dans des échantillons de selles positifs pour *C. albicans*.

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
	Gla	IC	Ent	Cry	Ehis	Enc	
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 lopéramide	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Bisacodyl	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Azithromycine	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Vancomycine	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Métronidazole	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Ampicilline	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Céfpodoxime	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Ciprofloxacine	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Hydrocortisone	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Carbonate de calcium	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Acide alginique	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Hydroxyde d'aluminium	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
Trisilicate de magnésium	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	0/5	Aucune réactivité croisée
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 Parasitic PLUS ELite MGB Kit.

Substances potentiellement interférentes : inhibition

L'inhibition potentielle du test par des substances interférentes (endogènes et exogènes) qui peuvent être présentes dans des échantillons de selles cliniques a été évaluée par l'analyse d'un panel de substances à une concentration pertinente dopées avec *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica*, *Encephalitozoon intestinalis* et *Enterocytozoon bieneusi* (Microbix, ZeptoMetrix et EG SpA).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Substance	Positifs/Réplicats						Résultat
	Cdif	IC	Yen	Shi	Cam	Sal	
Huile de vaseline	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	5/5	Aucune interférence
Nonoxonyl-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 lopéramide	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 Parasitic 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 *Cryptosporidium parvum* (EG SpA) à une concentration de 1 000 000 copies/mL dans 5 sessions d'analyse.

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

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

Dans ce test avec le GI Parasitic 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 *Giardia lamblia* (Microbix) à une concentration de 3 x la LoD (105 organismes/mL).

Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Échantillons	N	Positif	Négatif	Taux de défaillance de l'ensemble du système
Selles natives dopées à 3 x la LoD	50	50	0	0 %
Selles dans un milieu FecalSwab dopées à 3 x la LoD	30	30	0	0 %

Dans ce test avec le GI Parasitic PLUS ELite MGB Kit, 100 % 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 0 % 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 *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica*, *Encephalitozoon intestinalis* et *Enterocytozoon bieneusi* (Microbix, ZeptoMetrix et EG SpA).

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

Description	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Gla (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		6	34,37	0,21	0,60	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		6	-	-	-	100 %
Nég	Cry (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		6	35,42	0,75	2,11	100 %
3 x la LoD Ehis		6	-	-	-	100 %
Nég	Ehis (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		6	29,43	0,25	0,84	100 %
Nég	Ent (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		6	34,90	1,20	3,45	100 %
3 x la LoD Ehis		6	-	-	-	100 %
Nég	Enc (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		6	33,52	0,26	0,78	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		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.

Description	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Gla (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		6	33,88	0,29	0,87	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		6	-	-	-	100 %
Nég	Cry (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		6	34,56	0,27	0,79	100 %
3 x la LoD Ehis		6	-	-	-	100 %
Nég	Ehis (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		6	29,34	0,08	0,28	100 %
Nég	Ent (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		6	35,92	1,21	3,36	100 %
3 x la LoD Ehis		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.

Description	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Enc (Ct)	6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		6	33,59	0,17	0,52	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		6	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		6	-	-	-	100 %

Description	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Gla (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		12	33,90	0,22	0,66	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		12	-	-	-	100 %
Nég	Cry (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		12	35,15	0,57	1,64	100 %
3 x la LoD Ehis		12	-	-	-	100 %
Nég	Ehis (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		12	29,76	0,23	0,79	100 %
Nég	Ent (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		12	34,91	0,59	1,69	100 %
3 x la LoD Ehis		12	-	-	-	100 %
Nég	Enc (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		12	33,51	0,30	0,89	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		12	-	-	-	100 %

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

Description	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Gla (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		12	33,68	0,33	0,98	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		12	-	-	-	100 %
Nég	Cry (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		12	36,02	0,55	1,52	100 %
3 x la LoD Ehis		12	-	-	-	100 %
Nég	Ehis (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		12	-	-	-	100 %

Description	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
3 x la LoD Cry+Ent	Ent (Ct)	12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		12	29,30	0,17	0,58	100 %
Nég		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		12	34,96	0,51	1,45	100 %
3 x la LoD Ehis	Enc (Ct)	12	-	-	-	100 %
Nég		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		12	33,94	0,29	0,86	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		12	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		12	-	-	-	100 %

Dans le test de répétabilité, le GI Parasitic 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 3,36 %.

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 *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium parvum*, *Entamoeba histolytica*, *Encephalitozoon intestinalis* et *Enterocytozoon bieneusi* (Microbix, ZeptoMetrix et EG SpA).

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

Description	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Gla (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	34,33	0,41	1,21	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	41,23	-	-	97 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Nég		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc	Cry (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	35,39	0,62	1,74	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Nég	Ehis (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		36	29,74	0,26	0,86	100 %
Nég	Ent (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	35,25	0,76	2,15	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Nég	Enc (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	33,65	0,39	1,16	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		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.

Description	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Gla (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	33,69	0,31	0,93	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Nég		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc	Cry (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	35,97	0,77	2,14	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Nég	Ehis (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		36	29,35	0,21	0,70	100 %
Nég	Ent (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	34,61	0,71	2,04	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Nég	Enc (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	33,76	0,34	1,00	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		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.

Description	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Gla (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	34,42	0,50	1,45	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Nég		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc	Cry (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	35,75	0,58	1,61	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Nég	Ehis (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		36	29,99	0,32	1,05	100 %
Nég	Ent (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	35,29	1,08	3,07	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %

Description	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Enc (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	33,66	0,52	1,55	100 %
3 x la LoD Ehis		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.

Description	Cible	N	Moyenne	EC	% CV	Concordance (%)
Nég	Gla (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	33,73	0,30	0,90	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Nég	Cry (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	35,93	0,65	1,80	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Nég	Ehis (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	29,58	0,18	0,59	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Nég	Ent (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	34,27	0,58	1,69	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %
Nég	Enc (Ct)	36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Gla+Enc		36	33,93	0,38	1,11	100 %
3 x la LoD Cry+Ent		36	-	-	-	100 %
3 x la LoD Ehis		36	-	-	-	100 %

Dans le test de reproductibilité, le GI Parasitic 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 3,07 %.

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 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 système ELITE InGenius s'applique également au système ELITE BeGenius.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Selles négatives testées pour la cible	N	Positif	Négatif	Spécificité diagnostique (%)
<i>Giardia lamblia</i>	196	1	195	99,5 %
Espèce <i>Cryptosporidium</i>	196	0	196	100 %
<i>Entamoeba histolytica</i>	100	0	100	100 %
Espèce <i>Encephalitozoon</i>	100	0	100	100 %
<i>Enterocytozoon bienewisi</i>	100	0	100	100 %

Tous les échantillons de selles étaient valides pour l'analyse. L'échantillon positif possède un faible titre, proche de la valeur LoD du système, et, pour cet échantillon, un nouveau test n'était pas possible.

Dans ce test, la spécificité diagnostique du GI Parasitic PLUS ELITE MGB Kit en association avec des échantillons de selles était de 99,5 % pour Gla, 100 % pour Cry, 100 % pour Ehis, 100 % pour Enc et 100 % pour Ent.

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

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant.

Échantillons de selles positifs/dopés	N	Positif	Négatif	Sensibilité diagnostique (%)
Positif pour <i>Giardia lamblia</i>	77	76	1	98,7 %
Positif pour l'espèce <i>Cryptosporidium</i>	86	83	3	96,5 %
Positif pour <i>Entamoeba histolytica</i>	3	3	0	100 %
Dopé avec <i>Entamoeba histolytica</i>	50	50	0	
Positif pour l'espèce <i>Encephalitozoon</i>	12	12	0	100 %
Dopé avec l'espèce <i>Encephalitozoon</i>	45	45	0	
Positif pour <i>Enterocytozoon bienewisi</i>	46	43	3	95,6 %
Dopé avec <i>Enterocytozoon bienewisi</i>	22	22	0	

Dans ce test, la sensibilité diagnostique du GI Parasitic PLUS ELITE MGB Kit en association avec des échantillons de selles était de 98,7 % pour Gla, 96,5 % pour Cry, 100 % pour Ehis, 100 % pour Enc et 95,6 % pour Ent.

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 Parasitic PLUS ELITE MGB Kit », FTP 503ING.

BIBLIOGRAPHIE

- J. J. Verweij et al., (2003) Mol. and Cell. Probes 17: 223 – 225
 N. Valeix et al. (2020) Microorganisms 8: 1450
 N. Jothikumar et al. (2008) J. Medical Microbiology 57: 1099 – 1105
 R. Haque et al. (2007) Am. J. Med. Hyg. 76: 713 – 717
 Nozhat Zebardast et al. (2014) Iranian J. Parasitol. 9: 466 – 473
 J. J. Verweij et al. (2007), Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 57: 163 – 167
 A. J. da Silva et al. (1996) J. Clinical Microbiology 34: 986 – 987
 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.

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

Ce produit exige 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 détection de l'espèce *Cryptosporidium* et d'*Entamoeba histolytica* pourrait être altérée par *Candida albicans* si celle-ci est présente dans l'échantillon clinique de selles.

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

Comme avec tout autre dispositif médical de diagnostic, il existe un risque résiduel d'obtention de résultats non valides, ou de résultats erronés avec ce produit. Ce risque résiduel ne peut pas être éliminé ni réduit par la suite. Dans certains cas, ce risque résiduel pourrait contribuer à prendre de mauvaises décisions, avec des effets potentiellement dangereux pour le patient.

Néanmoins, ce risque résiduel associé à l'utilisation prévue du produit a été évalué comme acceptable au regard des avantages potentiels pour le patient.

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

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

Réaction du Contrôle négatif non valide	
Causes possibles	Solutions
Erreur de paramétrage de l'instrument.	Vérifier la position du PCR Mix et du Contrôle négatif. Vérifier les volumes du PCR Mix et du Contrôle négatif.
Contamination du Contrôle négatif.	Ne pas utiliser le Contrôle négatif pour plus d'une (1) session d'analyse. Utiliser une nouvelle aliquote d'eau de qualité biologie moléculaire.
Contamination du PCR Mix.	Utiliser une nouvelle aliquote du PCR Mix.
Contamination de la zone d'extraction, des 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.	Contacter 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 une nouvelle aliquote 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.	Contacter le service technique d'ELITechGroup.

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

Erreur de calcul de la valeur Ct	
Causes possibles	Solutions
Concentration trop élevée de la cible dans l'échantillon ou échantillon montrant une anomalie du signal de fluorescence.	Si une amplification significative est observée dans la courbe de PCR, sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat comme positif. Si aucune amplification n'est observée dans la courbe de PCR, sélectionner la position associée à l'échantillon et approuver manuellement le résultat comme négatif ou le laisser non valide. Si une valeur Ct est requise : - répéter l'amplification de l'échantillon élué avec une dilution à 1:10 dans de l'eau de qualité biologie moléculaire, lors d'une session d'analyse « PCR Only » (PCR 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 lors des étapes pré-analytiques.	Nettoyer la micropipette à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium à 3 % (eau de Javel) fraîchement préparée ou d'un agent de nettoyage de l'ADN/ARN après le pipetage de chaque échantillon. Ne pas utiliser de pipettes Pasteur. Les pipettes doivent être de type à déplacement positif ou être utilisées avec des cônes dotés d'un filtre pour les aérosols. Introduire les échantillons dans les dernières positions des instruments, comme indiqué par la GUI. Suivre la séquence de chargement indiquée par le logiciel.
Contamination environnementale du laboratoire.	Nettoyer toutes les surfaces en contact avec l'opérateur et les échantillons (y compris les pipettes) à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel) à 3 % fraîchement préparée ou d'un agent de nettoyage de l'ADN/ARN. Effectuer un cycle de décontamination U.V. Utiliser un nouveau tube de PCR Mix et/ou de CPE.

LÉGENDE DES SYMBOLES



Numéro de référence.



Limite supérieure de température.



Code de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*.



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



Identifiant unique de dispositif



Contenu suffisant pour « N » tests.



Attention, consulter le mode d'emploi.



Contenu.



Tenir à l'abri de la lumière du soleil.



Fabricant.

AVIS AUX UTILISATEURS

Tout incident grave lié au dispositif doit être signalé au fabricant ainsi qu'à l'autorité compétente de l'état membre dans lequel réside l'utilisateur et/ou le patient. 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 Parasitic PLUS ELITE MGB® Kit

used in association with Genius series® platforms

Ref: RTS503ING



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 Parasitic 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 *Giardia lamblia* (Gla) (alias *Giardia intestinalis*), *Cryptosporidium* spp. (Cry), *Entamoeba histolytica* (Ehis), *Encephalitozoon* spp (Enc), *Enterocytozoon bieneusi* (Ent), 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 parasitic infections in patients suspected of having *Giardia lamblia*, *Cryptosporidium* spp., *Entamoeba histolytica*, *Enterocytozoon bieneusi*, *Encephalitozoon* spp. infection.

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

Amplified sequence

Sequence	Gene	Fluorophore	Channel
Target 1	16s like	FAM	Gla
Target 2	18s	AP593	Cry
Target 3	18s	AP639	Ehis
Target 4	16s	AP690	Enc
Target 5	ITS	AP559	Ent
Internal Control	IC2	AP525	IC

Validated matrix

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

Kit content and related products

GI Parasitic PLUS ELITE MGB Kit (RTS503ING)	GI Parasitic PLUS - ELITE Positive Control (CTR503ING)
 X 8	 X 3
GI-P PCR Mix 8 tubes of 280 µL 12 reactions per tube 96 reactions per kit 7 freeze-thaw cycles per tube	GI-P 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: CTCPE › 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-P 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	Gla	35 org. / mL	98.7% ^(76/77)	99.5% ^(195/196)
	Cry	176 org. / mL	96.5% ^(83/86)	100% ^(196/196)
	Ehis	390 org. / mL	100% ^(53/53)	100% ^(100/100)
	Enc	231 copies / mL	100% ^(57/57)	100% ^(100/100)
	Ent	101 copies / mL	95.6% ^(65/68)	100% ^(100/100)

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 FecalSwab (Modified Cary Blair 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-P Positive Control** and **GI-P Negative Control** in the "Controls" menu.
Note: Both must have been run, approved and not expired.
- Thaw the **GI-P 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 Parasitic 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 Parasitic PLUS ELiTe_ST_200_100 or GI Parasitic PLUS ELiTe_PC or GI Parasitic 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-P Positive Control and GI-P Negative Control in the "Controls" menu. <i>Note:</i> Both must have been run, approved and not expired.	3. Thaw the GI-P PCR Mix and the CTRCPE tubes. Vortex gently. Spin down 5 sec.
---	--	--

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

1. Select "Perform Run" on the touch screen and then click on the run mode «Extract + PCR»	2. Insert the Sample Rack with the barcoded samples in the Cooler Unit. The barcode scan is already active	3. Verify the extraction volumes: Input: "200 µL", Eluate: "100 µL"
4. Select the "Assay Protocol" of interest: GI Parasitic 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 Parasitic PLUS ELiTe_Be_ST_200_100 or GI Parasitic PLUS ELiTe_Be_PC or GI Parasitic 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	