

NOTICE of CHANGE dated 14/03/19

IMPORTANT COMMUNICATION FOR THE USERS OF PRODUCT:

«Respiratory Bacterial ELITE MGB[®] Panel» Ref. RTS553ING

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

- *Modification of the indication of the number of reactions to be prepared in excess during preparation of the complete reaction mixture RB PCR Mix.*

Composition, use and performance of the product remain unchanged.

PLEASE NOTE

	LA REVISIONE DI QUESTO IFU E' COMPATIBILE ANCHE CON LA VERSIONE PRECEDENTE DEL KIT
	THE REVIEW OF THIS IFU IS ALSO COMPATIBLE WITH THE PREVIOUS VERSION OF THE KIT
	CET IFU MIS A JOUR ANNULE ET REMPLACE ET EST PARFAITEMENT COMPATIBLE AVEC LA VERSION PRECEDENTE DU KIT
	LA REVISIÓN DE ESTE IFU ES COMPATIBLE TAMBIÉN CON LA VERSIÓN ANTERIOR DEL KIT
	A REVISÃO DO ESTE IFU ÉTAMBÉM COMPATÍVEL COM A VERSÃO ANTERIOR DO KIT
	DIE REVIEW VON DIESER IFU IST KOMPATIBLE MIT DER VORIGE VERSION VON DEM TEST-KIT



Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel

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

REF RTS553ING



0344

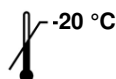


TABLE DES MATIÈRES

APPLICATION	Page 1
PRINCIPE DU TEST	Page 2
DESCRIPTION DU PRODUIT	Page 2
MATÉRIEL FOURNI	Page 3
MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI	Page 3
AUTRES PRODUITS REQUIS	Page 3
AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS	Page 4
ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES	Page 5
PROCÉDURE	Page 6
PERFORMANCES	Page 13
LIMITES DE LA PROCÉDURE	Page 17
PROBLÈMES ET SOLUTIONS	Page 18
LÉGENDE DES SYMBOLES	Page 19
NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE	Page 20

APPLICATION

Le produit «**Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel**» est un test multiplex qualitatif d'amplification des acides nucléiques pour la détection de l'ADN de *Legionella pneumophila*, de *Mycoplasma pneumoniae* et de *Chlamydia pneumoniae* dans des échantillons respiratoires.

Le produit est destiné à être utilisé, conjointement au tableau clinique du patient et aux résultats d'autres examens de laboratoire, dans le diagnostic des infections de *Legionella pneumophila*, de *Mycoplasma pneumoniae* et de *Chlamydia pneumoniae*.

Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS553ING

PRINCIPE DU TEST

Le test prévoit l'exécution d'une réaction multiplex d'amplification en temps réel avec un système intégré automatisé d'extraction, amplification en temps réel et interprétation des résultats.

À partir de l'ADN extrait des échantillons examinés, trois réactions d'amplification sont effectuées dans la cartouche; chacune d'elles est spécifique des bactéries suivantes:

- *Legionella pneumophila* (Lpneu), détectée par une sonde spécifique lue dans le canal «Legio» de ELITE InGenius
- *Mycoplasma pneumoniae* (Mpneu), détectée par une sonde spécifique lue dans le canal «Mpneu» de ELITE InGenius
- *Chlamydia pneumoniae* (Cpneu), détectée par une sonde spécifique lue dans le canal «Cpneu» de ELITE InGenius

De plus, la cartouche sert également à l'amplification du contrôle interne d'extraction et d'inhibition (IC), basé sur les séquences de *Streptococcus equi* (Sequi) et détecté par une sonde spécifique dans le canal «IC» de ELITE InGenius.

Les sondes adoptent la technologie MGB® TaqMan™ et elles sont activées lorsqu'elles hybrident avec le produit spécifique de la réaction d'amplification et sont hydrolysées par l'enzyme Taq ADN polymérase thermostable. L'émission de la fluorescence augmente au fur et à mesure qu'augmentent les produits spécifiques de la réaction d'amplification et elle est mesurée et enregistrée par l'instrument. Le traitement des données permet de détecter la présence des ADN bactériens susmentionnés dans l'échantillon initial.

Le test a été validé sur le système intégré automatisé d'extraction, amplification et détection des acides nucléiques **ELITE InGenius®**.

DESCRIPTION DU PRODUIT

Le produit «**Respiratory Bacterial ELITE MGB® Panel**» contient les composants suivants:

- **RB primer and probe mix**

Un mélange d'amorce d'oligonucléotides pour l'amplification en temps réel, dans une solution stabilisée, préaliquotée dans deux tubes (bouchon VIOLET). Chaque tube contient **90 µl** de solution; une quantité suffisante pour **48 tests** en conditions optimales de consommation de réactif (nombre de réactions correspondantes en multiples de 4 et avec un maximum de 8 sessions), en association avec le système **ELITE InGenius**.

- **RB buffer mix**

Un mélange optimisé et stabilisé de réactifs pour l'amplification en temps réel, préaliquoté dans deux tubes (bouchon ORANGE). Chaque tube contient **750 µl** de solution; une quantité suffisante pour **48 tests** en conditions optimales de consommation de réactif (nombre de réactions correspondantes en multiples de 4 et avec un maximum de 8 sessions), en association avec le système **ELITE InGenius**.

- **RB enzyme**

Un mélange optimisé et stabilisé d'enzymes pour l'amplification en temps réel, préaliquoté dans deux tubes (bouchon JAUNE). Chaque tube contient **60 µl** de solution; une quantité suffisante pour **48 tests** en conditions optimales de consommation de réactif (nombre de réactions correspondantes en multiples de 4 et avec un maximum de 8 sessions), en association avec le système **ELITE InGenius**.

Le produit permet d'effectuer **96 déterminations en association avec le système ELITE InGenius™**, y compris les contrôles.

MATÉRIEL FOURNI

Composant	Description	Quantité	Classification des dangers
RB primer and probe mix	mélange d'amorces et de sondes pour Lpneu, Mpneu, Cpneu et IC (Sequi) (bouchon VIOLET)	2 x 90 µL	-
RB buffer mix	mélange de réactifs pour PCR (bouchon ORANGE)	2 x 750 µL	-
RB enzyme	mélange d'enzymes pour PCR (bouchon JAUNE)	2 x 60 µL	-

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

- Hotte à flux laminaire.
- Gants sans poudre, jetables, en nitrile ou équivalent.
- Vortex.
- Microcentrifugeuse de paillasse (12000 – 14000 tr/min).
- Micropipettes et embouts stériles avec filtre pour aérosol ou à distribution positive (2-20 µl, 5-50 µl, 50-200 µl, 200-1000 µl).
- Eau ultra-pure pour biologie moléculaire.
- tubes Sarstedt de 2,0 mL skirted screw-cap (Sarstedt Réf. 72.694.005).

AUTRES PRODUITS REQUIS

Les réactifs pour l'extraction d'ADN des échantillons à analyser, le contrôle interne d'extraction, le contrôle positif d'amplification et les consommables **ne sont pas** compris dans ce produit.

Pour l'exécution automatique de l'extraction de l'ADN, de l'amplification en temps réel et de l'interprétation des résultats des échantillons à analyser, il est nécessaire d'utiliser l'instrument «**ELITe InGenius**» (ELITechGroup S.p.A., code INT030) et les *protocols* Assay spécifiques suivants:

- paramètres pour le contrôle positif d'amplification «**RB ELITe_PC**» (ELITechGroup S.p.A.),
- paramètres pour le contrôle négatif d'amplification «**RB ELITe_NC**» (ELITechGroup S.p.A.),
- paramètres pour l'échantillon à analyser «**RB ELITe_BAL_200_100**» (ELITechGroup S.p.A.).

Pour exécuter automatiquement les tests avec l'instrument «**ELITe InGenius**», l'utilisation des produits génériques suivants est également nécessaire:

- cartouches d'extraction «**ELITe InGenius® SP 200**» (ELITechGroup S.p.A., code INT032SP200),
- consommables pour l'extraction et l'amplification «**ELITe InGenius® SP 200 Consumable Set**» (ELITechGroup S.p.A., code INT032CS),
- cartouches d'amplification «**ELITe InGenius® PCR Cassette**» (ELITechGroup S.p.A., code INT035PCR),
- embouts «**300 µl Universal Fit Filter Tips**» (Axygen BioScience Inc., CA, USA, code TF-350-L-R-S),
- collecteur «**ELITe InGenius® Waste Box**» (ELITechGroup S.p.A., code F2102-000).

Comme contrôle interne d'extraction et d'inhibition, il est nécessaire d'utiliser le produit générique «**500-Internal Control**» (ELITechGroup S.p.A., code IC500), une solution stabilisée contenant *Streptococcus equi* (S.equi).

Comme contrôle positif d'amplification, il est nécessaire d'utiliser le produit spécifique «**Respiratory Bacterial-ELITe Positive Control**» (ELITechGroup S.p.A. code CTR553ING), une solution stabilisée contenant des ADN plasmidiques.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

Ce produit est destiné uniquement à l'usage *in vitro*.

Avertissements et précautions

Manipuler et éliminer tous les échantillons biologiques comme s'ils pouvaient transmettre des agents infectieux. Éviter le contact direct avec les échantillons biologiques. Éviter les éclaboussures ou les aérosols. Le matériel qui entre en contact avec les échantillons biologiques doit être décontaminé à l'hypochlorite de sodium à 3% pendant au moins 30 minutes ou autoclavé à 121°C pendant une heure avant d'être éliminé.

Manipuler et éliminer tous les réactifs et tous les matériaux utilisés pour le test comme s'il s'agissait de matériel potentiellement infectieux. Éviter le contact direct avec les réactifs. Éviter les éclaboussures ou les aérosols. Les déchets doivent être traités et éliminés conformément aux normes de sécurité. Le matériel jetable combustible doit être incinéré. Les déchets liquides contenant des acides ou des bases doivent être neutralisés avant leur élimination.

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

Ne jamais pipetter les solutions à la bouche.

Ne pas manger, boire, fumer ou se maquiller dans l'environnement de travail.

Se laver parfaitement les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs.

Éliminer les réactifs en surplus et les déchets en respectant les réglementations en vigueur.

Faire référence à la version courante de cette notice disponible en ligne.

Lire attentivement toutes les instructions fournies avec le produit avant de procéder au test.

Respecter scrupuleusement les consignes fournies avec le produit pendant l'exécution du test.

Respecter la date de péremption du produit.

N'utiliser que les réactifs présents dans le produit et ceux conseillés par le fabricant.

Ne pas utiliser des réactifs provenant de lots différents.

Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres fabricants.

Avertissements et précautions à adopter en biologie moléculaire

Les procédures de biologie moléculaire doivent être exécutées par un personnel compétent et ayant reçu une formation appropriée afin d'éviter tout risque de résultats erronés dus en particulier à la dénaturation des acides nucléiques ou à la contamination des échantillons par des produits d'amplification.

Il est nécessaire de disposer de blouses, gants et instruments dédiés à la préparation des sessions 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 ne doivent servir qu'à cet usage exclusif. Les pipettes doivent être du type à distribution positive ou utiliser des embouts à filtre pour aérosol. Les embouts utilisés doivent être stériles, dépourvus de DNase, RNase, d'ADN et d'ARN.

Les cartouches d'amplification doivent être maniées de manière à ne pas répandre dans l'environnement les produits d'amplification pour éviter la contamination due à des échantillons et des réactifs.

Avertissements et précautions concernant les composants

• RB primer and probe mix

Le mélange RB Primer and Probe doit être conservé à l'abri de la lumière, et à une température de -20°C.

Le mélange RB Primer and Probe ne doit pas être congelé et décongelé plus de **huit fois**: tout cycle de congélation/décongélation supplémentaire risque d'entraîner une perte des performances du produit.

• RB enzyme

Le mélange RB Enzyme doit être conservé à une température de -20 C.

Le mélange RB Enzyme ne doit pas être exposé à des températures supérieures à -20 C pendant plus de 10 minutes. Il est conseillé de stocker le mélange dans de la glace ou dans le bloc réfrigéré. Le mélange RB enzyme ne doit pas être utilisé plus de **huit fois**.

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS553ING

• **RB buffer mix**

Le mélange RB Buffer doit être conservé à une température de -20 °C.
Le mélange RB Buffer ne doit pas être congelé et décongelé plus de **huit fois**: tout cycle de congélation/décongélation supplémentaire risque d'entraîner une perte des performances du produit.

ÉCHANTILLONS ET CONTRÔLES

Échantillons

Ce produit doit être utilisé avec les échantillons cliniques suivants:

Échantillons respiratoires (lavage broncho-alvéolaire)

Les échantillons respiratoires destinés à l'extraction des acides nucléiques doivent être prélevés suivant les indications du laboratoire. Ils doivent être transportés et conservés à +2/+8°C pendant un maximum d'une semaine, sinon ils doivent être congelés et conservés à -20°C pendant un maximum de trente jours ou à -70°C pendant une période plus longue, conformément aux pratiques de laboratoire.

Il est conseillé de subdiviser dans plusieurs tubes les échantillons avant leur congélation de façon à ne pas les soumettre à plusieurs cycles de congélation/décongélation. Décongeler immédiatement les échantillons congelés avant l'extraction, afin d'éviter l'éventuelle dégradation de l'acide nucléique.

Remarque: lors de l'extraction de l'ADN d'échantillons respiratoires avec **ELITe InGenius** et avec **ELITe InGenius Software** version 1.2 (ou versions ultérieures équivalentes) utiliser l'Assay protocol **RB ELITe_BAL_200_100**. Ce protocole traite 200 µl d'échantillon, en ajoutant 10 µl de contrôle interne **500-Internal Control** et élue les acides nucléiques dans 100 µl.

Contrôles d'amplification

Avant d'analyser un échantillon avec le produit, il est impératif de générer et valider les contrôles d'amplification concernant le lot de réactif d'amplification que l'on souhaite utiliser:

comme contrôle positif d'amplification, utiliser le produit **Respiratory Bacterial-ELITe Positive Control** (non fourni), avec l'Assay protocol **RB ELITe_PC**,
comme contrôle négatif d'amplification, utiliser de l'eau ultra-pure pour biologie moléculaire (non fournie), avec l'Assay protocol **RB ELITe_NC**.

Remarque: le système **ELITe InGenius** exige la présence de résultats approuvés et valables des contrôles d'amplification pour chaque lot de réactif d'amplification mémorisé dans sa base de données. Les résultats des contrôles de l'amplification, approuvés et mémorisés dans la base de données, expireront après **15 jours**. À la date de péremption, il faudra refaire l'analyse des contrôles positifs et négatifs avec le lot de réactif d'amplification.

De plus, les contrôles d'amplification doivent être refaits dans les cas suivants:

- utilisation d'un nouveau lot de réactifs d'amplification,
- les résultats des analyses des contrôles de la qualité (voir paragraphe suivant) ne sont pas conformes aux spécifications,
- une intervention de maintenance a été exécutée sur l'instrument **ELITe InGenius**.

Contrôles de la qualité

Il est conseillé de valider périodiquement toute la procédure d'analyse, extraction et amplification, en utilisant un échantillon négatif et un échantillon positif déjà testés ou du matériel de référence.

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS553ING

PROCÉDURE

La procédure d'utilisation du produit «**Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel**» avec le système **ELITe InGenius** est formée de trois étapes:

- vérification que le système est prêt,
- préparation de la session,
- examen et approbation des résultats.

Vérification que le système est prêt

Avant de commencer la session, en se reportant à la documentation de l'instrument, il faut:

- allumer **ELITe InGenius** et accéder au système avec le mode «**FERMÉ**»;
- vérifier que les résultats des contrôles d'amplification (Controls, RB Positive Control, RB Negative Control) soient présents, approuvés et non périmés (*Status*) pour le lot de réactif d'amplification que l'on souhaite utiliser. En cas d'absence de résultats des contrôles d'amplification approuvés et valables, procéder comme suit pour les générer;
- choisir le type de passage en suivant les instructions de l'interface graphique (IG) pour paramétrer la session, en utilisant les *Assay protocol* fournis par ELITechGroup S.p.A. Ces protocoles IVD ont été validés spécifiquement avec les produits **ELITe MGB® Panel**, l'instrument **ELITe InGenius** et la matrice indiquée. L'*Assay protocol* pour l'analyse des échantillons cliniques, disponible pour le produit **Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel**, est décrit dans le tableau suivant.

Protocole du test pour Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel			
Nom	Matrice	Résultat	Caractéristiques
RB ELITe_BAL_200_100	Échantillons respiratoires (lavage broncho-alvéolaire)	Positif/Négatif	Volume initial d'extraction: 200 µl Volume d'élution de l'extraction: 100 µl Contrôle interne: 10 µl Sonication: NON Facteur de dilution: 1 Volume PCR Mix: 15 µl Volume de l'échantillon dans PCR: 10 µl

Si l'*Assay protocol* concerné ne se trouve pas dans le système, contacter le service Clients local d'ELITechGroup.

Préparation de la session

Le produit **Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel** associé au système **ELITe InGenius** peut être utilisé pour exécuter:

- A. Passage intégré (Extraction + PCR),
- B. Passage d'amplification (PCR seulement),
- C. Passage d'amplification pour le contrôle positif et le contrôle négatif (PCR seulement).

Tous les paramètres nécessaires pour exécuter la session sont inclus dans l'Assay protocol disponible sur l'instrument et sont affichés automatiquement lorsqu'on sélectionne l'Assay protocol.

Remarque: le système **ELITe InGenius** peut être relié au «*Location Information Server*» (LIS) qui lui permet d'envoyer les informations de paramétrage de la session. Pour plus d'informations, voir la notice d'instructions de l'instrument.

Les principales opérations pour le paramétrage des trois types de passage sont décrites ci-après.

A Passage intégré

Avant de commencer la session d'analyse, il faut:

- prendre et décongeler à température ambiante (+18/25 C) les tubes contenant les échantillons à analyser. Mélanger à l'aide d'un vortex pendant 10 secondes, centrifuger les tubes pendant 5 secondes pour reporter le contenu dans le fond et les conserver dans de la glace;
- prélever et décongeler pendant 30 minutes à température ambiante (+18/25 C) les tubes de RB primer and probe mix (bouchon VIOLET), nécessaires pour la session; se souvenir que le contenu de chaque tube permet de préparer 48 réactions. Mélanger le réactif à l'aide d'un vortex pendant 10 secondes; refaire trois fois cette opération; centrifuger les tubes pendant 5 secondes pour reporter le contenu dans le fond et les conserver dans de la glace;
- prélever et décongeler pendant 30 minutes à température ambiante (+18/25 C) les tubes de RB buffer mix (bouchon ORANGE), nécessaires pour la session; se souvenir que le contenu de chaque tube permet de préparer 48 réactions. Mélanger le réactif à l'aide d'un vortex pendant 10 secondes; refaire trois fois cette opération; centrifuger les tubes pendant 5 secondes pour reporter le contenu dans le fond et les conserver dans de la glace;
- prendre, au moment de l'utilisation, les tubes de RB enzyme (bouchon JAUNE), nécessaires pour la session. Se souvenir que le contenu de chaque tube permet de préparer 48 réactions. Agiter délicatement les tubes, les centrifuger pendant 5 secondes pour en reporter le contenu au fond et les conserver dans la glace.

Remarque: le RB Enzyme ne doit pas être exposé à des températures supérieures à -20 °C pendant plus de 10 minutes.

Une fois décongelé, il est conseillé de conserver le mélange dans de la glace ou dans le bloc réfrigéré.

- préparer un microtube pour biologie moléculaire en polypropylène de 2 mL (non fourni) pour le mélange complet de réaction RB PCR Mix et le marquer clairement à l'aide d'un feutre indélébile.
- calculer les volumes des trois composants fournis par le kit, nécessaires pour préparer le mélange complet de réaction RB PCR Mix en fonction du nombre d'échantillons à analyser, comme le montre le tableau suivant.

Remarque: pour calculer les volumes des trois composants, il est nécessaire de définir le nombre de réactions (N) de la séance de travail en ajoutant les échantillons cliniques à tester plus une réaction (lors de l'analyse de 1 à 4 échantillons), deux réactions (lorsque analyser de 5 à 8 échantillons), ou trois réactions (lors de l'analyse de 9 à 12 échantillons) comme marge de sécurité.

Nombre de réactions	RB primer and probe mix	RB buffer mix	RB enzyme
1	1.5 µl	12,5 µl	1 µl
N	N x 1,5 µl	N x 12,5 µl	N x 1 µl

- Préparer le mélange de réaction complet RB PCR Mix en versant dans le tube dédié les volumes calculés des trois composants.

Remarque: préparer le mélange de réaction complet, immédiatement avant d'effectuer le chargement sur l'instrument.

Remarque: le mélange de réaction complet **ne peut pas** être conservé; il est stable pour 3 sessions consécutives (le même jour où le mélange de réaction est reconstitué), s'il est conservé sur l'instrument (Inventory Area); néanmoins, il est important de le mélanger entre une session et l'autre.

Remarque: lorsqu'on prélève le liquide, l'embout ne doit pas être totalement immergé pour éviter des gaspillages de matériel et pour obtenir des volumes précis; le prélèvement et le dosage doivent être effectués très lentement afin d'éviter la formation de bulles d'air; enlever le liquide en excès, à l'extérieur de l'embout, avant le dosage, en appuyant l'embout sur le bord du tube; se souvenir de remplacer

l'embout après chaque étape de prélèvement et de dosage.

- Mélanger trois fois pendant 10 secondes environ, à l'aide d'un vortex à basse vitesse; centrifuger le tube pendant 5 secondes pour reporter le contenu dans le fond et conserver dans de la glace.
- Décongeler les tubes de **500 Internal Control** nécessaires à la session. Chaque tube suffit pour 32 réactions. Mélanger délicatement; centrifuger le contenu pendant 5 secondes avant chaque session. Mélanger de nouveau le contenu en pipettant, avant de charger le tube sur l'instrument.

Pour programmer le passage intégré, exécuter les indications suivantes, fournies par l'IG:

- Sélectionner «Perform Run/Exécuter» sur la page d'accueil.
- S'assurer que l'«Extraction Input Volume» est réglé sur 200 µl et l'«Extracted Elute Volume» sur 100 µl.
- Pour chaque «Track/Position» concernée, remplir le «SampleID» (SID) en saisissant ou en numérisant le code-barres de l'échantillon.
- Sélectionner l'Assay protocol à utiliser dans la colonne «Assay» (par exemple, RB ELITe_BAL_200_100).
- S'assurer que le «Protocol» [Protocole] affiché est: «Extract + PCR» [Extraction + PCR].
- Sélectionner la position de chargement de l'échantillon dans la colonne «Sample Position» [Emplacement de l'échantillon]:
 - si le tube primaire est utilisé, sélectionner «Primary Tube»,
 - si le tube secondaire est utilisé, sélectionner «Sonicator Tube».
 Cliquer sur «Next/Suivant» pour passer à l'opération suivante.
- Charger le 500 Internal Control et la RB PCR Mix dans l'«Inventory Block» sélectionné en suivant les instructions fournies par l'IG. Cliquer sur «Next/Suivant» pour passer à l'opération suivante.
- Charger et contrôler les compartiments à embouts dans l'«Inventory Area/Zone d'inventaire» sélectionnée en suivant les instructions fournies par l'IG. Cliquer sur «Next/Suivant» pour passer à l'opération suivante.
- Charger les «PCR Reaction Cassette/Cassettes PCR», les cartouches d'extraction «ELITe InGenius SP 200», tous les consommables et les échantillons à extraire dans l'emplacement spécifié au point 15, en suivant les instructions fournies par l'IG. Cliquer sur «Next/Suivant» pour passer à l'opération suivante.
- Refermer le volet de l'instrument.
- Appuyer sur «Start/Démarrage» pour lancer le passage.

Une fois terminée la session, le système **ELITe InGenius** permet d'afficher, valider et mémoriser les résultats, ainsi que d'imprimer et enregistrer le rapport.

Remarque: À la fin du passage, le reste de l'échantillon extrait dans l'«Elution Tube» doit être enlevé de l'instrument; il sera bouché, identifié et conservé à -20 C jusqu'à 30 jours. Éviter toute fuite de l'échantillon extrait.

Remarque: À la fin du passage, les «PCR Cassette/Cassettes PCR», avec les produits de réaction et les consommables, doivent être enlevées de l'instrument et éliminées sans contaminer l'environnement. Éviter la dispersion des produits de réaction.

B Passage d'amplification

1. Prendre et décongeler à température ambiante (+18/25 C) les tubes contenant les échantillons extraits. Mélanger à l'aide d'un vortex pendant 10 secondes, centrifuger les tubes pendant 5 secondes pour reporter le contenu dans le fond et les conserver dans de la glace;
2. préparer le mélange de réaction complet RB PCR Mix en versant dans le tube dédié les volumes calculés des trois composants, comme le décrit le paragraphe A. Course intégrée (du point 2 au point 8); le 500 contrôle interne ne doit pas être décongelé.

Pour programmer le passage d'amplification, exécuter les opérations suivantes, fournies par l'IG:

3. Sélectionner «Perform Run/Exécuter» sur la page d'accueil.
4. Même si l'extraction ne sera pas exécutée, s'assurer que l'«Extraction Input Volume» est réglé sur 200 µl et l'«Extracted Elute Volume» sur 100 µl.
5. Pour chaque «Track/Position» concernée, remplir le SID en saisissant ou en numérisant le code-barres de l'échantillon.
6. Sélectionner l'Assay protocol à utiliser dans la colonne «Assay» (par exemple, RB ELITe_BAL_200_100).
7. Sélectionner «PCR Only/PCR seulement» dans la colonne «Protocol/Protocole».
8. S'assurer que l'emplacement de chargement de l'échantillon dans la colonne «Sample Position/Emplacement échantillon» est réglé sur «ExtraTube/Extra tube (bottom row/ligne du bas)». Cliquer sur «Next/Suivant» pour passer à l'opération suivante.
9. Charger la RB PCR Mix dans l'«Inventory Block/Partie d'inventaire» sélectionné en suivant les instructions fournies par l'IG. Cliquer sur «Next/Suivant» pour passer à l'opération suivante.
10. Charger et contrôler les compartiments à embouts dans l'«Inventory Area/Zone d'inventaire» sélectionnée en suivant les instructions fournies par l'IG. Cliquer sur «Next/Suivant» pour passer à l'opération suivante.
11. Charger les «PCR Reaction Cassette/Cassettes PCR» et les échantillons des acides nucléiques extraits, en suivant les instructions fournies par l'IG. Cliquer sur le bouton «Next/Suivant» pour passer à l'opération suivante.
12. Fermer la porte de l'instrument.
13. Appuyer sur «Start/Démarrage» pour commencer le passage.

Une fois terminée la procédure, le système ELITe InGenius permet d'afficher, valider et mémoriser les résultats, ainsi que d'imprimer et enregistrer le rapport.

Remarque: À la fin du passage, le reste de l'échantillon demeuré dans l'«Elution Tube» doit être enlevé de l'instrument; il sera bouché, identifié et conservé à -20 C jusqu'à 30 jours. Éviter toute fuite de l'échantillon extrait.

Remarque: À la fin du passage, les «PCR Cassette/Cassettes PCR», avec les produits de réaction et les consommables, doivent être enlevées de l'instrument et éliminées sans contaminer l'environnement. Éviter la dispersion des produits de réaction.

C. Passage d'amplification pour le contrôle positif et le contrôle négatif

1. Préparer le mélange de réaction complet RB PCR Mix en versant dans le tube dédié les volumes calculés des trois composants, comme le décrit le paragraphe A. Course intégrée (du point 2 au point 8); le 500 Internal Control ne doit pas être décongelé).
2. Décongeler le **Respiratory Bacterial-ELITe Positive Control** pour la session. Chaque tube suffit pour 6 sessions. Mélanger délicatement; centrifuger le contenu pendant 5 secondes.
3. Verser au moins 50 µl d'eau ultra-pure pour biologie moléculaire dans un «Elution tube», fourni avec ELITe InGenius SP 200 Consumable Set.

Pour programmer le passage d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif, suivre les indications suivantes, fournies par l'IG:

4. Sélectionner «Perform Run/Exécuter» sur la page d'accueil.
5. Dans les «Track/Position» concernées, sélectionner l'Assay protocol à utiliser dans la colonne «Assay».
6. Pour le contrôle positif, sélectionner le protocole RB ELITe_PC dans la colonne «Assay»; puis saisir le numéro de lot et la date de péremption du RB Positive Control.
7. Pour le contrôle négatif, sélectionner le protocole du test RB ELITe_NC dans la colonne «Assay»; puis saisir le numéro de lot et la date de péremption de l'eau ultra-pure pour biologie moléculaire.
8. Cliquer sur «Next/Suivant» pour passer à l'opération suivante.
9. Charger la RB PCR Mix dans l'«Inventory Block/Partie d'inventaire» sélectionné en suivant les instructions fournies par l'IG. Cliquer sur «Next/Suivant» pour passer à l'opération suivante.
10. Charger/contrôler les compartiments à embouts dans l'«Inventory Area/Zone d'inventaire» en suivant les instructions fournies par l'IG. Cliquer sur «Next/Suivant» pour passer à l'opération suivante.
11. Charger les «PCR Cassette/Cassette PCR», le tube de RB Positive Control et le tube du contrôle négatif en suivant les instructions fournies par l'IG. Cliquer sur le bouton «Next/Suivant» pour passer à l'opération suivante.
12. Fermer la porte de l'instrument.
13. Appuyer sur «Start/Démarrage» pour commencer le passage.

Une fois terminée la procédure, l'ELITe InGenius permet d'afficher, valider et mémoriser les résultats, ainsi que d'imprimer et enregistrer le rapport.

Remarque: Les résultats des tests des contrôles positifs et négatifs exécutés sont utilisés par le logiciel de l'instrument pour compiler le «Control Chart/Graphique de contrôle». Les résultats des contrôles positifs et des contrôles négatifs servent à surveiller les performances de la phase d'amplification. Reportez-vous au manuel d'utilisation de l'instrument pour plus de détails.

Remarque: À la fin du passage, le reste du contrôle positif doit être enlevé de l'instrument; il sera bouché, identifié et conservé à -20 C. Éviter toute fuite du contrôle positif. Le reste du contrôle négatif doit être éliminé.

Remarque: À la fin du passage, les «PCR Cassette/Cassettes PCR», avec les produits de réaction et les consommables, doivent être enlevées de l'instrument et éliminées sans contaminer l'environnement. Éviter la dispersion des produits de réaction.

- Examen et approbation des résultats

À la fin du passage, l'écran «Results Display/Page des résultats» est affiché automatiquement. Cet écran affiche les résultats concernant l'échantillon/contrôle, ainsi que les informations concernant le passage. Sur cet écran, il est possible de valider le résultat, ainsi qu'imprimer et enregistrer les rapports («Sample Report/Rapport échantillon» ou «Track Report/Rapport position»). Pour plus d'informations, voir la notice d'instructions de l'instrument.

Remarque: le système ELITe InGenius peut être relié à un système d'interface LIS; ce dernier permet d'envoyer automatiquement les résultats approuvés au centre de traitement des données du laboratoire. Pour plus d'informations, voir la notice d'instructions de l'instrument.

Le système **ELITe InGenius** génère les résultats avec le produit **Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel** par le biais de cette procédure:

- Validation des résultats du contrôle positif et du contrôle négatif d'amplification,
- Validation des résultats de l'échantillon,
- Compte-rendu des résultats de l'échantillon.

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

Les signaux de fluorescence, émis par les sondes pour les gènes cibles («Legio», «Mpneu», «Cpneu») au cours de la réaction d'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif, sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument à l'aide de paramètres inclus dans les *Assay protocols* «RB ELITe_PC» et «RB ELITe_NC».

Les résultats du contrôle positif et du contrôle négatif d'amplification, spécifiques du lot de réactif d'amplification, sont mémorisés dans la base de données (*Controls*); ils peuvent être affichés et approuvés par le personnel avec la qualification d'«*Amministrator/Administrateur*» ou d'«*Analyst/Analyste*», en suivant les instructions fournies par l'IG.

Les résultats du contrôle positif et du contrôle négatif d'amplification, spécifiques pour le lot du réactif d'amplification, expirent **après 15 jours**.

Avant d'analyser un échantillon, il est nécessaire de vérifier la présence des résultats de l'amplification du contrôle positif et du contrôle négatif, approuvés et valides pour le lot de réactif d'amplification que l'on souhaite utiliser. La disponibilité du résultat du contrôle positif et du contrôle négatif d'amplification «*Approved/Approuvé*» (*Status/Statut*) est affichée sur la fenêtre «*Controls/Contrôles*» de l'IG. Si aucun résultat du contrôle positif et du contrôle négatif d'amplification approuvé et valide n'est présent, il faut les générer ainsi que nous l'avons décrit plus haut.

Remarque: Lorsqu'un résultat d'amplification du contrôle positif ou du contrôle négatif ne satisfait pas les critères d'acceptation, l'instrument affiche le message «*not passed/non passé*» sur l'écran «*Controls/Contrôles*»; il ne sera pas possible de l'approuver. Dans ce cas, la réaction d'amplification du contrôle positif ou du contrôle négatif doit être refaite.

Remarque: Si le contrôle positif ou le contrôle négatif est traité en même temps que les échantillons à analyser et que le résultat n'est pas valide, toute la session n'est pas valide. Dans ce cas, l'amplification des échantillons doit être également refaite.

B. Validation des résultats de l'échantillon

Les signaux de fluorescence émis par les sondes pour gènes cibles («Legio», «Mpneu», «Cpneu»), et par la sonde pour le contrôle interne («IC») au cours des réactions d'amplification des échantillons sont analysés automatiquement et interprétés par le logiciel de l'instrument à l'aide des paramètres inclus dans l'*Assay protocol* RB ELITe_BAL_200_100.

Remarque: Avant d'analyser un échantillon, vérifier la présence de résultats des contrôles d'amplification approuvés et valides pour le lot de réactif d'amplification que l'on souhaite utiliser. La disponibilité des résultats des contrôles d'amplification «*Approved/Approuvé*» (*Status/Statut*) est affichée sur la fenêtre «*Controls/Contrôles*» de l'IG. Si aucun résultat des contrôles d'amplification approuvé et valide n'est présent, il faut les générer ainsi que nous l'avons décrit plus haut.

Les résultats sont affichés dans les rapports générés par l'instrument («*Result Display/Écran des résultats*»).

Le passage de l'échantillon peut être approuvé lorsque les deux conditions mentionnées dans le tableau ci-après sont satisfaites.

1) Contrôle positif	Statut
RB Positive Control	APPROVED
2) Contrôle négatif	Statut
RB Negative Control	APPROVED

Pour chaque échantillon, le résultat de l'analyse est interprété automatiquement par le système, ainsi que l'établit l'algorithme de l'ELITe InGenius software, et par les paramètres de l'*Assay protocol*.

Les éventuels messages concernant le résultat d'un échantillon sont indiqués sur le tableau ci-après. Pour chaque échantillon valide, le système mentionne une combinaison de trois messages spécifiant si les gènes RB ont été détectés ou non.

Résultat du passage de l'échantillon	Interprétation
Legio: DNA Detected.	L'ADN du gène de <i>Legionella pneumophila</i> a été décelé dans l'échantillon.
Mpneu: DNA Detected.	L'ADN du gène de <i>Mycoplasma pneumoniae</i> a été décelé dans l'échantillon.
Cpneu: DNA Detected.	L'ADN du gène de <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> a été décelé dans l'échantillon.
Legio: DNA Not Detected or below LoD.	L'ADN du gène de <i>Legionella pneumophila</i> n'a pas été décelé dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour ce gène ou sa présence est inférieure au seuil de détection du produit.
Mpneu: DNA Not Detected or below LoD.	L'ADN du gène de <i>Mycoplasma pneumoniae</i> n'a pas été décelé dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour ce gène ou sa présence est inférieure au seuil de détection du produit.
Cpneu: DNA Not Detected or below LoD.	L'ADN du gène de <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> n'a pas été décelé dans l'échantillon. L'échantillon est négatif pour ce gène ou sa présence est inférieure au seuil de détection du produit.
Invalid - Retest Sample.	Résultat du test non valide à cause d'un problème avec le contrôle interne (extraction erronée ou présence d'un inhibiteur).

Les échantillons dont les résultats ne peuvent pas être interprétés sont indiqués comme «*Invalid - Retest Sample*» par le logiciel ELITe InGenius. Dans ce cas, l'ADN du Contrôle interne n'a pas été détecté correctement et des problèmes sont apparus pendant la phase d'amplification ou lors de la phase d'extraction (altération de l'ADN, perte de l'ADN pendant l'extraction ou présence d'inhibiteurs). Ces problèmes peuvent engendrer des résultats erronés et des faux négatifs.

Lorsque le volume de l'éluat est suffisant, l'échantillon extrait peut être réanalysé à l'aide de l'amplification en mode «PCR seulement». Si le résultat non valide est confirmé, l'échantillon doit être retesté à partir de l'extraction d'un nouveau tube en utilisant le mode «Extract + PCR».

Les échantillons appropriés dans lesquels l'ADN des gènes de *Legionella pneumophila*, de *Mycoplasma pneumoniae* et de *Chlamydomphila pneumoniae* n'a pas été détecté sont signalés comme «*DNA Not Detected or below LoD/ADN non détecté ou inférieur à LoD*». Dans ce cas, il n'est pas exclu que l'ADN soit présent à un titre inférieur à la limite de détection du produit (voir paragraphe «Caractéristiques des performances»).

Remarque: Les résultats obtenus avec ce test doivent être interprétés compte tenu de tout le tableau clinique et des autres résultats des examens de laboratoire concernant le patient.

Les résultats du passage de l'échantillon sont mémorisés dans la base de données et, s'ils sont valides, ils peuvent être approuvés (*Result Display*) par le personnel ayant la qualification d'«Administrateur» ou d'«Analyste» conformément aux instructions de l'IG. Sur la fenêtre «*Result Display/Écran des résultats*», il est possible d'imprimer et d'enregistrer les résultats de la session comme «*Sample Report/Rapport échantillon*» et «*Track Report/Rapport position*».

C. Compte-rendu des résultats de l'échantillon

Les résultats de l'échantillon sont mémorisés dans la base de données et ils peuvent être exportés comme «*Sample Report/Rapport échantillon*» et «*Track Report/Rapport position*».

Le «*Sample Report/Rapport échantillon*» montre les détails d'une session de travail pour les échantillons sélectionnés (SID).

Le «*Track Report/Rapport position*» montre les détails d'une session de travail pour les positions sélectionnées.

Les «*Sample Report/Rapport échantillon*» et les «*Track Report/Rapport position*» peuvent être imprimés et signés par le personnel agréé.

PERFORMANCES

Seuil de détection (LoD)

Le seuil de détection (LoD) du test, utilisé avec les échantillons respiratoires en association avec le système ELITe InGenius a été vérifié en testant des dilutions sérielles de plasmides contenant la séquence cible pour chaque pathogène détecté par le test multiplex (80,000-40,000-20,000-10,000-5,000-2,500-1,250-625-312 copies/ml).

Le LoD obtenu des résultats de 10 réplications de chaque dilution a été défini comme la concentration correspondante à la dernière étape de dilution à laquelle 100% des réplications fournissent un résultat positif.

Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Seuil de détection pour échantillons respiratoires et ELITe InGenius (copies/ml)	
Cible	LoD (copies/ml)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (Mpneu)	625
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i> (Cpneu)	1,250
<i>Legionella pneumophila</i> (Lpneu)	5,000

De plus, la sensibilité analytique a été analysée par régression linéaire. La régression linéaire a été calculée sur des dilutions en série de plasmides, pour calculer le coefficient de régression R² et la pente. Les valeurs de R² pour les quatre pathogènes ont été supérieures à 0,98, ce qui démontre la bonne linéarité à l'intérieur de cet intervalle de dilution.

Répétabilité

La répétabilité du test, en tant qu'imprécision intrasession, en association avec l'instrument ELITe InGenius, a été testée en exécutant 10 réplications de deux concentrations (10xLoD et 3xLoD) d'un échantillon clinique caractérisé pour chaque cible, testé par extraction et PCR par le même opérateur, avec le même lot de réactifs, le même instrument et dans le même environnement.

Les résultats des tests ont montré une excellente répétabilité des résultats, avec un coefficient de variabilité en pourcentage (CV%) inférieur à 4% pour chaque échantillon et pour chaque concentration (10xLoD et 3xLoD).

Le tableau ci-après récapitule les résultats.

Répétabilité de Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel					
Échantillon	Concentration	Ct moyen	SD	CV%	% positifs
Legio_sample1	10xLoD	30,5	0,2	0,5	100
Legio_sample1	3xLoD	32,5	0,3	0,8	100
Mpneu_sample4	10xLoD	30,6	0,3	0,9	100
Mpneu_sample4	3xLoD	32,6	0,5	1,4	100
Cpneu_sample1	10xLoD	31,1	0,6	1,9	100
Cpneu_sample1	3xLoD	33,7	1,3	3,7	100

Reproductibilité

La reproductibilité, en ce qui concerne la variabilité du produit entre lots et entre instruments, et entre laboratoires, en association avec le système ELITe InGenius, a été testée en utilisant les mêmes échantillons et les mêmes lots de réactifs de différents opérateurs, dans des temps différents, avec différents instruments et laboratoires.

La précision a été exprimée sur la base des mesures statistiques de l'imprécision, telles que les écarts-types (SD) et le coefficient de variation (CV%). L'analyse des données a montré une haute reproductibilité des résultats avec des valeurs de CV% inférieures ou égales à 3% pour chaque échantillon et pour chaque concentration.

Le tableau ci-après récapitule les résultats.

Reproductibilité de Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel					
Échantillon	Concentration	Ct moyen	SD	CV%	% positifs
Legio_sample1	10xLoD	30,4	0,6	2,0	100
Legio_sample1	3xLoD	32,7	0,3	1,0	100
Mpneu_sample4	10xLoD	30,8	0,5	1,7	100
Mpneu_sample4	3xLoD	33,2	1,0	3,0	100
Cpneu_sample1	10xLoD	30,4	0,8	2,7	100
Cpneu_sample1	3xLoD	32,3	0,5	1,6	100

Spécificité analytique et test de matériel de référence

La spécificité du test exécuté avec le produit Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel en association avec le système ELITe InGenius, a été testée en exécutant une extraction et une PCR sur panels QCMD LPDNA15 et CP.MP16.

Ce test permet d'obtenir un score maximum pour le panel QCMD, sans être influencé par la réaction croisée des acides nucléiques liés ou potentiellement interférents ou par des conditions liées à l'échantillon. Le seul échantillon manquant, CP.MP16-06, est un échantillon rarement détecté.

Le tableau ci-après récapitule les résultats.

Échantillon	Description	Statut de l'échantillon	Valeur de Ct		
			Legio	Mpneu	Cpneu
LPDNA15-01	<i>L. pneumophila</i> sg1	detected	34,5	nég	nég
LPDNA15-02	<i>L. pneumophila</i> sg6	detected	29,6	nég	nég
LPDNA15-03	<i>L. pneumophila</i> sg1	frequently detected	31,0	nég	nég
LPDNA15-04	<i>L. pneumophila</i> sg1	frequently detected	27,4	nég	nég
LPDNA15-05	<i>L. longbeachae</i>	NA	26,4*	nég	nég
LPDNA15-06	negative	negative	nég	nég	nég
LPDNA15-07	<i>L. pneumophila</i> sg1	frequently detected	27,4	nég	nég
LPDNA15-08	<i>L. pneumophila</i> sg1	frequently detected	30,5	nég	nég
LPDNA15-09	<i>L. pneumophila</i> sg3	frequently detected	28,6	nég	nég
LPDNA15-10	negative	negative	nég	nég	nég
CP.MP16-02	<i>M. pneumoniae</i>	infrequently detected	nég	36,8	nég
CP.MP16-03	<i>M. pneumoniae</i>	detected	nég	31,1	nég
CP.MP16-05	<i>M. pneumoniae</i>	frequently detected	nég	27,8	nég
CP.MP16-06	<i>C. pneumoniae</i>	infrequently detected	nég	nég	neg (2/2)
CP.MP16-07	<i>C. pneumoniae</i>	frequently detected	nég	nég	32,2
CP.MP16-08	<i>M. pneumoniae</i>	frequently detected	nég	29,1	nég
CP.MP16-09	negative	negative	nég	nég	nég
CP.MP16-10	<i>M. pneumoniae</i>	detected	nég	31,3	nég

* Le produit est capable de détecter également l'ADN de *Legionella longbeachae* ; les performances pour cette cible ne sont pas complètement définies.

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS553ING

En outre, la spécificité a été évaluée en testant 80 échantillons cliniques environ, contenant des bactéries, des parasites et des virus. Aucun pathogène, si ce n'est ceux qui étaient attendus, n'a été détecté. Le tableau ci-après récapitule les résultats.

Pathogènes (virus)	Résultat
Adénovirus	négatif
Astrovirus	négatif
Coronavirus 229	négatif
Coronavirus 43	négatif
Coronavirus 63	négatif
Cytomegalovirus	négatif
Enterovirus	négatif
Epstein-Barr virus	négatif
Herpes simplex virus 1	négatif
Herpes simplex virus 2	négatif
Human herpes virus 6	négatif
Human herpes virus 7	négatif
Human metapneumovirus	négatif
Influenza A virus	négatif
Influenza B virus	négatif
Measles virus	négatif
Mumps virus	négatif
Norovirus G1	négatif
Norovirus G2	négatif
Parainfluenzavirus 1	négatif
Parainfluenzavirus 2	négatif
Parainfluenzavirus 3	négatif
Parainfluenzavirus 4	négatif
Parvovirus B19	négatif
Polyomavirus 1 (BKV)	négatif
Respiratory syncytial virus A	négatif
Respiratory syncytial virus B	négatif
Rhinovirus	négatif
Rotavirus	négatif
Sapovirus	négatif
Varicella-zoster virus	négatif

Pathogènes (bactéries et parasites)	Résultats	Pathogènes (bactéries et parasites)	Résultats
<i>Aeromonas hydrophila</i>	négatif	<i>Legionella pneumophila</i>	positif
<i>Bacillus ssp.</i>	négatif	<i>Legionella ansia</i>	négatif
<i>Bifidobacterium</i>	négatif	<i>Listeria monocytogenes</i>	négatif
<i>Bordetella pertussis</i>	négatif	<i>Moraxella catarrhalis</i>	négatif
<i>Campylobacter jejuni</i>	négatif	<i>Morganella morganii</i>	négatif
<i>Campylobacter coli</i>	négatif	<i>Mycoplasma genitalium</i>	négatif
<i>Chlamydia trachomatis</i>	négatif	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	positif
<i>Citrobacter freundii</i>	négatif	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	négatif
<i>Clostridium difficile</i>	négatif	<i>Proteus mirabilis</i>	négatif
<i>Clostridium perfringens</i>	négatif	<i>Proteus vulgaris</i>	négatif
<i>EHEC vtx+</i>	négatif	<i>Rhodococcus equi</i>	négatif
<i>EIEC</i>	négatif	<i>Salmonella typhimurium</i>	négatif
<i>Enterococcus faecalis</i>	négatif	<i>Shigella boydii</i>	négatif
<i>EPEC</i>	négatif	<i>Staphylococcus aureus</i>	négatif
<i>ETEC</i>	négatif	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	négatif
<i>Haemophilus influenzae</i>	négatif	<i>Treponema pallidum</i>	négatif
<i>Haflnia alvei</i>	négatif	<i>Vibrio cholerae</i>	négatif
<i>Klebsiella oxytoca</i>	négatif	<i>Yersinia enterocolitica</i>	négatif
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	négatif		

Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel
réactif pour l'amplification en temps réel de l'ADN

REF RTS553ING

Sensibilité diagnostique: confirmation d'échantillons positifs

La sensibilité diagnostique du test, entendue comme confirmation des échantillons cliniques positifs, a été évaluée en analysant plusieurs échantillons positifs par dilution de matériel de référence, positif pour l'ADN des cibles, dans des échantillons provenant de différents patients négatifs.

Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Échantillon	N	Positifs	Négatifs	Non valides
Échantillons respiratoires positifs pour <i>Legionella pneumophila</i>	30	30	0	0
Échantillons respiratoires positifs pour <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	30	30	0	0
Échantillons respiratoires positifs pour <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	30	30	0	0

Au cours de ce test, la sensibilité de l'analyse a été de 100% pour *Legionella pneumophila*, 100 % pour *Mycoplasma pneumoniae*, et 100% pour *Chlamydomphila pneumoniae*.

Spécificité diagnostique: confirmation d'échantillons négatifs

La spécificité diagnostique du test, entendue comme confirmation d'échantillons cliniques négatifs, a été évaluée en analysant plusieurs échantillons archivés, issus de différents patients négatifs.

Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.

Échantillon	N	Positifs	Négatifs	Non valides
Échantillons respiratoires négatifs pour <i>Legionella pneumophila</i>	34	0	34	0
Échantillons respiratoires négatifs pour <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	34	0	34	0
Échantillons respiratoires négatifs pour <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	34	0	34	0

Au cours de ce test, la spécificité de l'analyse a été de 100% pour *Legionella pneumophila*, 100% pour *Mycoplasma pneumoniae*, 100% pour *Chlamydomphila pneumoniae*.

De plus, les échantillons cliniques ont été précédemment testés positifs pour d'autres pathogènes respiratoires (RSV A et B, Influenza A et B, parainfluenza 1, 2, 3, 4, adénovirus, metapneumovirus, entérovirus, coronavirus QC43, 229E, NL63, rhinovirus, bocavirus, pneumocystis, HHV7, HSV1, HHV6, EBV et CMV); ils ont montré l'absence de réaction croisée, étant donné qu'aucun signal positif n'a été détecté.

Remarque: Les données et les résultats complets des essais effectués pour l'évaluation des caractéristiques des performances du produit avec les matrices et l'instrument ont été enregistrés dans le Fascicule technique de produit «Respiratory Bacterial ELITe MGB® Panel», FTP RTS553ING.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Ce produit ne doit être utilisé qu'avec les échantillons cliniques suivants: échantillons respiratoires (lavage broncho-alvéolaire).

Aucune donnée n'est disponible concernant l'inhibition par d'autres médicaments antiviraux, antibiotiques, chimiothérapiques ou immunosuppresseurs.

Les résultats obtenus avec ce produit dépendent de l'identification, collecte, transport, conservation et préparation corrects des échantillons. Les résultats obtenus avec ce produit dépendent également de l'utilisation de produits liés appropriés. Pour éviter des résultats erronés, il est donc nécessaire d'accorder le maximum d'attention à ces phases et de suivre scrupuleusement les instructions fournies avec les produits pour l'extraction des acides nucléiques.

Compte tenu de sa forte sensibilité analytique, l'amplification en temps réel des acides nucléiques, utilisée dans ce test, est sujette à la contamination par des échantillons cliniques positifs, par des contrôles positifs et par des produits de la même réaction d'amplification. Les contaminations engendrent des résultats faux positifs. Le protocole du produit a été élaboré afin de limiter les contaminations ; cependant, ces phénomènes ne peuvent être évités qu'avec une bonne pratique des techniques de laboratoire et le respect scrupuleux des consignes fournies dans cette notice.

Pour éviter tout accident pouvant avoir des conséquences graves pour l'utilisateur ou des tierces personnes, ce test doit être réalisé par un personnel compétent et formé à la manipulation d'échantillons biologiques (pouvant transmettre des agents infectieux) et de produits chimiques dangereux.

Pour éviter tout accident pouvant avoir des conséquences graves pour l'utilisateur ou des tierces personnes, le port de vêtements de travail et l'accès à des locaux adaptés à la manipulation d'échantillons biologiques (pouvant transmettre des agents infectieux) et des produits chimiques dangereux sont requis.

Afin d'éviter d'obtenir des résultats erronés, ce produit doit être manipulé par un personnel compétent et formé aux procédures de biologie moléculaire (extraction, amplification et détection d'acides nucléiques).

Afin d'éviter de faux positifs, il est nécessaire de porter des vêtements de travail et d'utiliser des instruments dédiés à la préparation des sessions de travail.

Les différentes technologies présentant des différences intrinsèques, avant de passer à un nouveau produit, il est conseillé de procéder à des études de corrélation pour estimer ces différences.

Un résultat négatif obtenu avec ce produit indique que les acides nucléiques cibles du test n'ont pas été détectés dans les acides nucléiques de l'échantillon. Il ne faut pas exclure cependant que de l'ADN cible soit présent à un titre inférieur au seuil de détection du produit (voir Caractéristiques des performances). Dans ce cas, le résultat serait un faux négatif.

Dans le cas de co-infections, la sensibilité d'une cible peut être influencée par l'amplification d'une deuxième cible.

Des interférences potentielles causées par des conditions particulières du patient pourraient causer des résultats erronés.

Un résultat non valide obtenu avec ce produit indique qu'il n'a pas été possible de détecter le contrôle interne de manière efficace. Dans ce cas, il faudra refaire l'analyse de l'échantillon, ce qui entraînera des retards pour l'obtention des résultats.

Les polymorphismes éventuels dans les régions de l'ADN cible dans lequel hybrident les oligonucléotides d'amorçage et les sondes du produit pourraient compromettre la détection de l'ADN cible.

Comme pour tous les autres tests médicaux de diagnostic, les résultats obtenus avec ce produit doivent être interprétés en tenant compte de toutes les données cliniques et des autres examens de laboratoire du patient.

Comme pour tous les autres tests médicaux de diagnostic, il subsiste un risque résiduel d'obtenir avec ce produit des résultats non valides, faux positifs et faux négatifs. Ce risque ne peut être ni supprimé ni diminué. Dans certaines situations particulières, ce risque résiduel peut contribuer à la prise de décisions erronées pouvant avoir de conséquences graves pour le patient.

PROBLÈMES ET SOLUTIONS

Réaction du Positive Control non valide	
Causes éventuelles	Solutions
Erreur de paramétrage de la session.	Contrôler la position du PCR Mix et du contrôle positif. Contrôler les volumes de PCR Mix et du contrôle positif.
Dégradation du Positive Control.	Utiliser un nouveau tube de contrôle positif.
Dégradation de PCR Mix.	Utiliser un nouveau tube de PCR Mix.
Erreur de l'instrument.	Contacteur l'assistance technique ELITechGroup S.p.A.

Réaction du Negative Control non valide	
Causes éventuelles	Solutions
Erreur de paramétrage de la session.	Contrôler la position du PCR Mix et du contrôle négatif. Contrôler les volumes de PCR Mix et du contrôle négatif.
Contamination du Negative Control.	Utiliser un nouveau tube d'eau ultra-pure pour biologie moléculaire.
Contamination de PCR Mix.	Utiliser un nouveau tube de PCR Mix.
Contamination de l'Extraction Area, des Rack ou du Bloc de l'Inventory Area.	Nettoyer les surfaces à l'aide d'un détergent aqueux. Laver les blouses et remplacer les tubes et les embouts utilisés.
Erreur de l'instrument.	Contacteur l'assistance technique ELITechGroup S.p.A.

Réaction des échantillons non valide	
Causes éventuelles	Solutions
Erreur de paramétrage de la session.	Contrôler la position du PCR Mix et de l'échantillon. Contrôler les volumes de PCR Mix et de l'échantillon.
Dégradation de PCR Mix.	Utiliser un nouveau tube de PCR Mix.
Inhibition engendrée par des substances interférentes avec l'échantillon.	Refaire l'amplification avec l'échantillon dilué 1:2 dans de l'eau ultra-pure pour biologie moléculaire, en paramétrant la session sur «PCR seulement». Refaire l'extraction en diluant l'échantillon 1:2 dans de l'eau ultra-pure pour biologie moléculaire, en paramétrant la session sur «Extraction + PCR».
Erreur de l'instrument.	Contacteur l'assistance technique ELITechGroup S.p.A.

LÉGENDE DES SYMBOLES

REF

Référence du catalogue.



Seuil supérieur de température.

LOT

Numéro de lot.



Date de péremption (dernier jour du mois).



Conforme aux exigences essentielles de la Directive européenne 98/79/CE concernant le diagnostic *in vitro*. Certification délivrée par DEKRA Certification B.V., Pays-Bas.



Contenu suffisant pour « N » tests.



Attention, consulter le mode d'emploi.

CONT

Contenu.



Conserver à l'abri de la lumière solaire.



Fabriqué par.

NOTE POUR L'ACQUÉREUR : LICENCE LIMITÉE

Les réactifs de détection TaqMan™ MGB® sont protégés aux États-Unis par un ou plusieurs brevets déposés sous les numéros 6,127,121, 6,485,906, 6,660,845, 6,699,975, 6,727,356, 6,790,945, 6,949,367, 6,972,328, 7,045,610, 7,319,022, 7,368,549, 7,381,818, 7,662,942, 7,671,218, 7,715,989, 7,723,038, 7,759,126, 7,767,834, 7,897,736, 8,008,522, 8,067,177, 8,163,910, 8,389,745, 8,969,003, 8,980,855, 9,056,887, 9,085,800, 9,169,256 et par les brevets européens numéro 1068358, 1144429, 1232157, 1261616, 1430147, 1781675, 1789587, 1975256, 2714939, ainsi que par les dépôts de brevets en cours d'homologation.

Cette licence limitée permet à la personne ou à l'entité légale ayant acquis ce produit de l'utiliser, ainsi que tous les résultats obtenus d'une telle utilisation, exclusivement dans le domaine de l'analyse médicale humaine. Ni ELITechGroup S.p.A. ni ses partenaires concédant des licences n'accordent expressément ou de façon implicite une licence pour d'autres utilisations.

ELITe MGB® et le logo ELITe MGB® sont des marques commerciales enregistrées par ELITechGroup pour l'Union européenne.

ELITe InGenius® est une marque commerciale d'ELITechGroup.

TaqMan™ est une marque commerciale de Roche Molecular Systems inc.