

Real Time PCR Detection Kit

HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum Assay
for BD MAX™ System
Notice d'utilisation

CE 2797 IVD

Cette notice d'utilisation s'applique aux références suivantes :

PRODUIT	RÉFÉRENCE
VIASURE HSV-1, HSV-2 & <i>Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System	444222

Tableau A 1. Référence du produit à utiliser avec BD MAX™ System.

EN For download IFUS from other languages, please enter in **certest.es/viasure/labeling**. Once you be there, please following the instructions for access to the language that you need. If you need additional information, please contact: viasure@certest.es.

BG За да изтеглите IFUS на други езици, моля, отидете на **certest.es/viasure/labeling**. След това следвайте инструкциите, за да получите достъп до необходимия ви език. Ако имате нужда от допълнителна информация, моля, свържете се с: viasure@certest.es.

CS Chcete-li si stáhnout IFUS v jiných jazycích, přejděte na stránku **certest.es/viasure/labeling**. Jakmile se tam dostanete, postupujte podle pokynů pro přístup k požadovanému jazyku. Pokud potřebujete další informace, kontaktujte prosím: viasure@certest.es.

DA Hvis du vil downloade IFUS på andre sprog, kan du gå til **certest.es/viasure/labeling**. Når du er der, skal du følge instruktionerne for at få adgang til det sprog, du har brug for. Hvis du har brug for yderligere oplysninger, kan du kontakte: viasure@certest.es.

DE Um den IFUS in anderen Sprachen herunterzuladen, gehen Sie bitte zu **certest.es/viasure/labeling**. Wenn Sie dort sind, folgen Sie den Anweisungen, um auf die gewünschte Sprache zuzugreifen. Wenn Sie weitere Informationen benötigen, wenden Sie sich an: viasure@certest.es.

EL Για να κατεβάσετε το IFUS σε άλλες γλώσσες, μεταβείτε στη διεύθυνση **certest.es/viasure/labeling**. Μόλις φτάσετε εκεί, ακολουθήστε τις οδηγίες για να αποκτήσετε πρόσβαση στη γλώσσα που χρειάζεστε. Εάν χρειάζεστε πρόσθετες πληροφορίες, επικοινωνήστε με τη διεύθυνση: viasure@certest.es.

ES Para descargar las IFUS en otros idiomas, por favor, entre en **certest.es/viasure/labeling**. Una vez esté allí, siga las instrucciones para acceder al idioma que necesite. Si necesita información adicional, contacte: viasure@certest.es.

ET IFUSi allalaadimiseks teistes keeltes külastage **certest.es/viasure/labeling**. Kui olete seal, järgige juhiseid, et saada juurdepääs vajalikule keelele. Kui vajate lisateavet, võtke palun ühendust: viasure@certest.es.

FR Pour télécharger l'IFUS dans d'autres langues, veuillez vous rendre sur **certest.es/viasure/labeling**. Une fois sur place, suivez les instructions pour accéder à la langue dont vous avez besoin. Si vous avez besoin d'informations supplémentaires, contactez: viasure@certest.es.

HR Za preuzimanje IFUS-a s drugih jezika unesite **certest.es/viasure/labeling**. Kada ste tamo, slijedite upute za pristup jeziku koji vam je potreban. Ako trebate dodatne informacije, obratite se na: viasure@certest.es.

HU Az IFUS más nyelveken történő letöltéséhez kérjük, látogasson el a **certest.es/viasure/labeling** weboldalra. Ha ott van, kövesse az utasításokat a kívánt nyelv eléréséhez. Ha további információra van szüksége, kérjük, forduljon a következő címre: viasure@certest.es.

IT Per scaricare l'IFUS in altre lingue, vai su **certest.es/viasure/labeling**. Una volta che sei lì, segui le istruzioni per accedere alla lingua di cui hai bisogno. Se hai bisogno di ulteriori informazioni, contatta: viasure@certest.es.

LT Norėdami atsisiųsti IFUS kitomis kalbomis, eikite į certest.es/viasure/labeling. Ten atlikite nurodymus, kad pasiektumėte reikiamą kalbą. Jei reikia papildomos informacijos, kreipkitės adresu: viasure@certest.es.

LV Lai lejupielādētu IFUS citās valodās, lūdzu, apmeklējiet certest.es/viasure/labeling. Pēc tam izpildiet norādījumus, lai piekļūtu vajadzīgajai valodai. Ja nepieciešama papildu informācija, lūdzu, sazinieties ar: viasure@certest.es.

NB For å laste ned IFUS fra andre språk, gå inn på certest.es/viasure/labeling. Når du er der, kan du følge instruksjonene for å få tilgang til det språket du trenger. Hvis du trenger ytterligere informasjon, kan du kontakte: viasure@certest.es.

PT Para baixar o IFUS em outras idiomas europeus, acesse certest.es/viasure/labeling. Uma vez lá, siga as instruções para acessar o idioma que você precisa. Se você precisar de informações adicionais, entre em contato: viasure@certest.es.

RO Pentru a descărca IFUS în alte limbi, vă rugăm să accesați certest.es/viasure/labeling. Accesat site-ul, urmați instrucțiunile pentru a selecta limba necesară. Pentru informații suplimentare, contactați: viasure@certest.es.

SV För att ladda ner IFUS från andra språk, vänligen gå in på certest.es/viasure/labeling. När du är där följer du instruktionerna för att få tillgång till det språk du behöver. Om du behöver ytterligare information, vänligen kontakta: viasure@certest.es.

SK Ak si chcete stiahnuť IFUS v iných jazykoch, prejdite na stránku certest.es/viasure/labeling. Keď sa tam dostanete, postupujte podľa pokynov a získajte prístup k požadovanému jazyku. Ak potrebujete ďalšie informácie, obráťte sa na: viasure@certest.es.

FI Lataa suomeksi turvallinen käyttöopas osoitteesta certest.es/viasure/labeling. Kun olet siellä, seuraa ohjeita. Jos tarvitset lisätietoja, ota yhteyttä: viasure@certest.es.

Veillez consulter le site certest.es/viasure/labeling si votre langue ne figure pas sur la liste. Veuillez contacter viasure@certest.es si votre langue ne figure pas sur le site web.

Remarque : l'utilisateur doit notifier au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel il est établi en tant qu'utilisateur et/ou patient tout incident grave lié au produit.

Contenu

1. Destination.....	6
2. Résumé et explication.....	6
3. Principe de la procédure	7
4. Réactifs fournis	8
5. Réactifs et équipement à fournir par l' utilisateur.....	8
6. Conditions de transport, de stockage et d' utilisation	9
7. Précautions pour les utilisateurs.....	9
8. Procédure de test.....	11
8.1. Prélèvement, transport et stockage des échantillons.....	11
8.2. Préparation de l' échantillon et extraction du DNA.....	12
8.3. Protocole PCR.....	13
8.3.1. Création d' un programme de test PCR pour VIASURE <i>HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System	13
8.3.2. Préparation du portoir BD MAX™	16
8.3.3. Préparation de l' instrument BD MAX™	17
8.3.4. Rapport des résultats BD MAX™	18
9. Interprétation des résultats	18
10. Limitations du test	20
11. Contrôle qualité	22
12. Caractéristiques des performances analytiques	22
12.1. Linéarité analytique.....	22
12.2. Sensibilité analytique	23
12.2.1. Limite de blanc (LoB)	23
12.2.2. Limite de détection (LoD)	23
12.3. Plage de mesure	24
12.4. Exactitude.....	24
12.4.1. Justesse	24
12.4.2. Fidélité.....	25
12.4.3. Exactitude.....	28

12.5.	Spécificité et réactivité analytiques	28
12.5.1.	Spécificité analytique	28
12.5.2.	Réactivité analytique	34
12.6.	Traçabilité métrologique	35
13.	Caractéristiques des performances cliniques	35
	Bibliographie.....	37
	Symboles pour les composants IVD et réactifs	38
	Marques commerciales	38

FRANÇAIS

1. Destination

Le VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System est un test qPCR automatisé conçu pour la détection qualitative simultanée du DNA de Virus Herpes Simplex 1 (HSV-1), Virus Herpes Simplex 2 (HSV-2) et *Treponema pallidum* (syphilis) dans des échantillons d'écouvillons prélevés sur des lésions cutanées anogénitales et orales chez des patients chez lesquels une infection par HSV-1, HSV-2 et *T. pallidum* est suspectée par leur professionnel de santé (PS). Ce test est destiné à faciliter le diagnostic de l'infection par le microorganisme mentionné précédemment en combinaison avec les signes et symptômes cliniques du patient et/ou les facteurs de risque épidémiologique. Les résultats positifs indiquent la présence de la cible d'acides nucléiques (AN), mais n'excluent pas la présence d'autres agents pathogènes non détectés par le test. Des résultats négatifs n'excluent pas la présence d'AN cibles et ne doivent pas être utilisés comme seule base pour le traitement ou d'autres décisions de prise en charge du patient. Le test utilise le BD MAX™ System pour l'extraction automatisée du DNA, puis la méthode qPCR, employant les réactifs fournis combinés avec des réactifs universels et consommables pour le BD MAX™ System. Le DNA est extrait d'échantillons, amplifié par qPCR et détecté en utilisant des amorces spécifiques et des sondes à marqueur rapporteur fluorescent pour HSV-1, HSV-2 et *T. pallidum*.

L'utilisation de ce produit est réservée au personnel de laboratoire clinique qualifié et formé, spécifiquement instruit et formé aux techniques de PCR en temps réel et aux procédures de diagnostic in vitro (notamment grâce à une formation sur l'instrument de PCR en temps réel [thermocycleur] et le système d'extraction d'acides nucléiques).

2. Résumé et explication

Les types 1 et 2 du virus Herpes simplex humain (HSV) sont deux des virus humains les plus répandus dans le monde, ils sont couramment associés à des maladies telles que l'herpès labial, l'herpès génital, la kératite stromale herpétique, la méningite et l'encéphalite (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Le HSV affecte principalement la peau et les muqueuses, provoquant des infections persistantes comportant des périodes de latence (quiescence) et de récurrence de la maladie (réactivation) (Cole, 2020; Minaya et al., 2017). La transmission du HSV-1 et du HSV-2 a lieu par contact oral, tandis que les infections à HSV-2 surviennent ultérieurement, généralement par transmission sexuelle, et les manifestations cliniques de ces virus sont hautement variables : asymptomatiques, légères ou potentiellement mortelles (Cole, 2020; WHO, 2023; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Chez la plupart des personnes immunocompétentes, le HSV provoque une maladie bénigne qui se résout d'elle-même (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Cependant, l'infection par le HSV est également associée à une morbidité et une mortalité élevées chez certaines personnes, comme les patients immunodéprimés qui souffrent d'infections récurrentes par le HSV (Cole, 2020; Zhu & Viejo-Borbolla, 2021). Il a été observé qu'une infection par un type de HSV génère généralement une immunité qui permet de prévenir toute réinfection par le même sérotype, mais pas par l'autre (Zhu & Viejo-Borbolla, 2021).

Le spirochète *Treponema pallidum* est reconnu comme l'agent causal de la syphilis vénérienne, du pian, de la syphilis endémique et de la pinta, qui sont toutes des infections à plusieurs stades qui ne peuvent être différenciées qu'à partir de critères cliniques, épidémiologiques et géographiques (Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023; Radolf et al., 2016; Tudor

et al., 2022). *T. p. pertenue* est associée au pian, *T. carateum* à la pinta et *T. p. endemicum* à la syphilis endémique, mais *T. pallidum* sous-espèce *pallidum* est la seule sous-espèce liée à la syphilis vénérienne (Mercuri et al., 2022; Tudor et al., 2022).

La syphilis évolue selon plusieurs stades, chacun présentant des signes et des symptômes distincts, tels que des chancres dans la syphilis primaire et des éruptions cutanées ou des ulcères dans la syphilis secondaire (CDC, 2023; Mercuri et al., 2022; Peeling et al., 2023). Du fait de la multiplicité de ses manifestations cliniques, la syphilis est surnommée « la grande simulatrice » (Peeling et al., 2023; Tudor et al., 2022). Au fil de l'histoire, cette maladie a touché diverses populations à risque, et bien qu'elle ait été presque éradiquée en 1998, son incidence est en hausse depuis les années 2000 (Mercuri et al., 2022).

Il est toujours conseillé de procéder à un test permettant de différencier le HSV-1 du HSV-2, car cette distinction peut influencer tant le pronostic que la prise en charge. Le CDC recommande de confirmer le diagnostic clinique par des tests virologiques et sérologiques spécifiques au type (Cole, 2020). La détection du DNA de HSV-1 et HSV-2 par réaction en chaîne par polymérase (PCR) est une méthode de laboratoire fiable pour diagnostiquer les infections génitales aiguës à HSV (Cole, 2020). En ce qui concerne *T. pallidum*, la détection directe et les tests sérologiques sont utilisés pour le diagnostic de laboratoire, car cet agent pathogène ne peut être cultivé (Forrestel et al., 2020). Cependant, les tests sérologiques ne permettent pas de distinguer la syphilis des autres infections tréponémiques en raison de la grande similitude génétique entre les tréponèmes pathogènes (Forrestel et al., 2020). En raison de leur haute sensibilité, les techniques d'amplification des acides nucléiques, telles que la PCR, permettent de détecter le DNA bactérien dans les échantillons cliniques aux premiers stades de la maladie, permettant d'élaborer une stratégie potentielle de lutte contre l'épidémie de syphilis (Peeling et al., 2023).

3. Principe de la procédure

Le VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System est conçu pour la détection qualitative simultanée du DNA de Virus Herpes Simplex 1 (HSV-1), Virus Herpes Simplex 2 (HSV-2) et *Treponema pallidum* (syphilis) dans des échantillons d'écouvillons prélevés sur des lésions cutanées anogénitales et orales. Après isolement du DNA, l'identification de HSV-1, HSV-2 et *T. pallidum* est effectuée par amplification d'une région conservée du gène *UL1* de la glycoprotéine *L* de HSV-1, du gène *US4* de la glycoprotéine *G* de HSV-2 et du gène *16S rRNA* de *T. pallidum*, au moyen d'amorces spécifiques et de sondes marquées par fluorescence.

Le VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System est basé sur l'activité de l'exonucléase 5' de la DNA polymérase. Au cours de l'amplification du DNA, cette enzyme hydrolyse la sonde reliée à la séquence de DNA complémentaire, séparant le fluorophore du quencher. Cette réaction entraîne une augmentation du signal fluorescent qui est proportionnelle à la quantité de matrice cible. Cette fluorescence est mesurée sur le BD MAX™ System.

Le VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System contient dans chaque tube tous les composants nécessaires à la réalisation d'un test PCR en temps réel (amorces/sondes spécifiques, dNTPs, tampon,

polymérase) sous une forme stabilisée¹, ainsi qu'un contrôle interne endogène (EIC) (*gène RNase P humain*) pour le suivi de l'intégrité de l'échantillon, pour surveiller le processus d'extraction et/ou pour écarter l'inhibition de l'activité polymérase. Les gènes présents dans le DNA humain sont impliqués dans la maintenance des cellules de base et, par conséquent, sont censés être présents dans toutes les cellules humaines nucléées et maintenir des niveaux d'expression relativement constants.

Cible	Canal	Gène
HSV-1	475/520	Gène <i>UL1</i> de la <i>glycoprotéine L</i>
HSV-2	530/565	Gène <i>US4</i> de la <i>glycoprotéine G</i>
<i>T. pallidum</i>	630/665	Gène <i>16S rRNA</i>
Contrôle interne endogène (EIC)	585/630	<i>RNase P</i>

Tableau 1. Cible, canal et gènes.

4. Réactifs fournis

Le VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System contient les matériels et les réactifs décrits dans le tableau 2 ci-après :

Réactif/matériel	Description	Plage de concentration	Code	Quantité
<i>HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum</i> reaction tube	Lyoprotecteurs et stabilisateurs	±6 g/100 mL*	Opercule 1E	2 poches de 12 tubes transparents
	Nucléotide triphosphate (dNTPs)	±1 mM*		
	Amorces et sondes	0,2–1 nMol/μL*		
	Enzymes	10–100 U/réaction*		
Rehydration Buffer tube	Mélange de solution saline	±13 mM	Opercule 11	1 poche de 24 tubes transparents
	Tampon (TRIS, pH)	±67 mM		

Tableau 2. Réactifs et matériel fournis dans VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System avec Réf. N°. 444222.

* Pour le composant au format stabilisé, la plage de concentration s'entend après réhydratation.

5. Réactifs et équipement à fournir par l'utilisateur

La liste suivante présente les matériaux qui sont nécessaires pour l'utilisation, mais qui ne sont pas inclus dans le kit VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

- Instrument PCR en temps réel : BD MAX™ System (réf. : 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (réf. :442827 ou 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (réf. : 437519).
- Mélangeur Vortex.
- Micropipettes (exactitude entre 2 et 1000 μL).
- Eau exempte de nucléase.
- Embouts à filtre.
- Gants jetables sans poudre.

¹ Veuillez noter que les termes « stabilisé » et « lyophilisé » sont indistinctement utilisés comme synonymes dans l'ensemble du document.

En option :

- Le matériau de contrôle externe peut être utilisé dans le cadre de la procédure de contrôle qualité de l'efficacité du test. Des matériaux de contrôle disponibles dans le commerce et/ou des échantillons préalablement caractérisés comme positifs ou négatifs peuvent être utilisés comme contrôle positif externe (EPC) ou contrôle négatif externe (ENC), respectivement. La sélection et la validation du EPC et du ENC doivent être effectuées conformément aux réglementations locales, nationales et/ou fédérales applicables ainsi qu'aux procédures de contrôle qualité standard du laboratoire. En outre, lors de l'utilisation d'un matériau de contrôle disponible dans le commerce, l'utilisateur doit suivre la notice d'utilisation associées.

6. Conditions de transport, de stockage et d'utilisation

- Les kits peuvent être expédiés et stockés à une température comprise entre 2 et 30 °C jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette du kit.
- Évitez les vibrations pendant le transport pour empêcher les fuites de liquide.
- La durée d'utilisation du produit est de 28 jours à 2-30 °C maximum après ouverture des poches en aluminium contenant les tubes réactionnels. Conserver le flacon à l'abri de la lumière.

Le tableau suivant résume les conditions de transport, de stockage et d'utilisation de l'ensemble du kit et de chaque composant :

Composant	Conditions de transport	Conditions de stockage	Conditions d'utilisation
VIASURE HSV-1, HSV-2 & <i>Treponema pallidum</i> Assay for BD MAX™ System complet	2-30°C pendant la durée de conservation indiquée sur l'étiquette du kit.	Avant utilisation : 2-30 °C pendant la durée de conservation indiquée sur l'étiquette du kit.	* Voir les conditions d'utilisation de chaque composant.
HSV-1, HSV-2 & <i>Treponema pallidum</i> reaction tube (opercule 1E)		Avant utilisation : 2-30 °C pendant la durée de conservation indiquée sur l'étiquette du kit. Une fois que la poche est ouverte avec le gel de silice : 2-30 °C jusqu'à 28 jours.	Température ambiante.
Rehydration Buffer tube		Avant utilisation : 2-30 °C pendant la durée de conservation indiquée sur l'étiquette du kit. Une fois que la poche est ouverte avec le gel de silice : 2-30 °C jusqu'à 28 jours.	Température ambiante.

Tableau 3. Résumé des conditions de transport, de stockage et d'utilisation du VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System et de chaque composant.

7. Précautions pour les utilisateurs

- L'utilisation de ce produit est réservée au personnel de laboratoire clinique qualifié et formé, spécifiquement instruit et formé aux techniques de PCR en temps réel et aux procédures de diagnostic *in vitro*.
- Pour les procédures diagnostiques *in vitro*.
- Lisez attentivement la notice d'utilisation du produit VIASURE et le mode d'emploi du BD MAX™ System avant toute utilisation du VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. N'effectuez pas le test avant d'avoir compris les informations sur les procédures, les consignes de sécurité et les limitations décrites dans ces documents.

- N'utilisez pas les réactifs et/ou matériaux après la date de péremption.
- N'utilisez pas le kit si l'étiquette qui scelle la boîte extérieure est déchirée.
- N'utilisez pas les réactifs dont la poche de protection est ouverte ou endommagée à la livraison.
- N'utilisez pas les réactifs dont les poches de protection sont ouvertes ou fissurées à la livraison.
- N'utilisez pas les réactifs sans absorbeur d'humidité ou si celui-ci est cassé à l'intérieur des poches de réactifs.
- Ne retirez pas l'absorbeur d'humidité des poches de réactifs.
- N'utilisez pas les réactifs dont l'opercule en aluminium est cassé ou endommagé.
- Ne mélangez pas des réactifs provenant de poches, de kits et/ou de lots différents.
- Refermez rapidement les poches de protection des réactifs avec la fermeture à glissière étanche après chaque utilisation afin de protéger le master mix de la lumière du soleil. Expulsez tout excès d'air des poches avant de les sceller.
- Protégez les réactifs contre l'humidité. Toute exposition prolongée à l'humidité risque d'altérer l'efficacité du produit.
- Pour éviter la détérioration de l'étiquette, ne pas utiliser le produit à proximité de solvants.
- Une apparence du mélange réactionnel au format stabilisé, se trouvant normalement au fond du tube, différente de celle habituelle (sans forme conique, inhomogène, de taille plus petite/plus grande et/ou de couleur autre que blanchâtre) n'altère pas la fonctionnalité du test.
- Assurez-vous que le tube réactionnel et le tube du tampon de réhydratation sont bien clipsés en position pendant la préparation du portoir BD MAX™.
- Si d'autres tests PCR sont menés dans la même zone commune du laboratoire, assurez-vous que le VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, le kit d'extraction BD MAX™ ExK™ TNA-3, tout réactif supplémentaire requis pour le test et le BD MAX™ System ne sont pas contaminés. Évitez à tout moment tout risque de contamination microbienne et par la ribonucléase (RNase)/désoxyribonucléase (DNase) des réactifs. L'utilisation d'embouts de pipette stériles, exempts de RNase/DNase, à usage unique, résistants aux aérosols ou à déplacement positif est fortement recommandée. Utilisez un nouvel embout pour chaque échantillon. Changez de gants avant toute manipulation de réactifs et de cartouches (BD MAX™ PCR Cartridge).
- Pour éviter toute contamination de l'environnement par des amplicons, abstenez-vous de désassembler la BD MAX™ PCR Cartridge après utilisation. Les joints de la BD MAX™ PCR Cartridge sont conçus pour éviter une contamination.
- Élaborez un flux de travail unidirectionnel. Il doit commencer dans la zone d'extraction, puis passer dans la zone d'amplification et de détection. Ne ramenez pas les échantillons, l'équipement et les réactifs dans la zone où s'est déroulée l'étape précédente.
- Suivez les bonnes pratiques de laboratoire. Portez des vêtements de protection, utilisez des gants, lunettes de protection et masque jetables. Abstenez-vous de manger, de fumer ou d'appliquer des produits cosmétiques dans la zone de travail. Lavez-vous les mains une fois que vous avez terminé le test.
- Traitez les échantillons, ainsi que tout réactif et tout matériau ayant été exposés à ces derniers, comme des agents potentiellement infectieux et/ou présentant un danger biologique, et manipulez-les conformément aux réglementations nationales applicables en matière de sécurité. Prenez les précautions nécessaires pendant la collecte, le transport, le stockage, la manipulation et l'élimination des échantillons.

- Les échantillons et les réactifs doivent être manipulés dans une enceinte de sécurité biologique. Utilisez un équipement de protection individuelle (EPI) conforme aux directives en vigueur pour la manipulation d'échantillons potentiellement infectieux. Éliminez les déchets conformément aux réglementations locales et nationales.
- Une décontamination régulière de l'équipement fréquemment utilisé est recommandée, en particulier des micropipettes et des surfaces de travail.
- Conformément au Règlement (CE) n° 1907/2006 (REACH), les tests VIASURE for BD MAX™ System ne nécessitent pas de fiches de données de sécurité (Safety Data Sheets) en raison de leur classification comme non dangereux pour la santé et l'environnement, car ils ne contiennent pas de substances et/ou de mélanges répondant aux critères de classification des dangers définis dans le Règlement (CE) n° 1272/2008 (CLP), ou présents à des concentrations supérieures à la valeur établie dans le règlement précité pour leur déclaration. Il est possible de demander à Certest Biotec S.L. une déclaration confirmant qu'aucune fiche de données de sécurité (FDS) n'est requise.
- Assurez-vous que la définition du programme de test PCR sur BD MAX™ System est réalisée conformément aux instructions de la section « PCR protocol » (Protocole PCR), c'est-à-dire aux paramètres d'extraction de l'échantillon, aux codes-barres personnalisés, aux réglages PCR, etc.
- Consultez la notice d'utilisation du BD MAX™ System pour en savoir plus sur les avertissements, les précautions et les procédures à respecter.
- Le certificat d'analyse n'est pas fourni avec le dispositif, mais vous pouvez le télécharger depuis le site web de Certest Biotec S.L. (www.certest.es) au besoin.

8. Procédure de test

8.1. Prélèvement, transport et stockage des échantillons

Le VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a été testé dans des échantillons d'écouvillons prélevés sur des lésions cutanées anogénitales et orales avec le Copan ESwab® (Copan's Liquid Amies Elution Swab) (ci-après dénommé échantillons de lésions cutanées naturelles). Tout autre type d'échantillon doit être validé par l'utilisateur.

La collecte, le stockage et le transport des échantillons doivent être conformes aux conditions validées par l'utilisateur. De manière générale, les échantillons cliniques doivent être prélevés et étiquetés de manière appropriée dans des contenants propres avec ou sans milieu de transport (en fonction du type d'échantillon). Après le prélèvement, les échantillons doivent être placés dans un sac de protection contre les risques biologiques et doivent être transportés et traités dès que possible pour garantir la qualité du test. Les échantillons doivent être transportés à température ambiante (TA) ou à $2\pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 48 heures maximum et conformément aux réglementations locales et nationales relatives au transport de matières porteuses d'agents pathogènes. Pour un transport de longue durée, nous recommandons de réaliser l'expédition à une température inférieure ou égale à -20°C ². Les échantillons soumis à des tests moléculaires doivent être conservés dans des

² Recommandations de l'IDSA (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... et Pritt B.S., 2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94))

conditions contrôlées afin que les acides nucléiques ne se dégradent pas pendant le stockage. Il est recommandé d'utiliser des échantillons frais pour le test, mais si cela n'est pas possible ou dans le cadre d'une étude rétrospective, les échantillons doivent être conservés de préférence à -70 ou -80 °C et, à défaut, à -20 °C³.

Les échantillons cliniques doivent être prélevés, transportés et stockés conformément aux directives spécifiques du laboratoire et/ou au manuel détaillant sa politique. À titre d'exemple, veuillez consulter la directive IDSA (Miller J.M., Binnicker M.J., Campbell S., ... et Pritt B.S., 2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94) ou Sánchez-Romero M.I., García-Lechuz Moya J.M., González López J.J. et Orta Mira N. Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. *Enfermedades Infecc. y Microbiol. Clin. (éd. anglaise)* 37, 127-134 (2019).

Remarque : Les conditions de prélèvement, de transport et de stockage des échantillons indiquées ci-dessus sont suggérées sur la base des recommandations pour les échantillons du tractus génito-urinaire et destinées à être utilisées pour la détection de l'acide nucléique, telles qu'elles figurent dans les guides de référence précédemment mentionnés. Néanmoins, nous recommandons de suivre les directives du laboratoire et/ou le manuel de sa politique pour un transport et un stockage appropriés des échantillons.

Une étude de stabilité des échantillons en interne a été réalisée avec VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System en utilisant une matrice négative de lésion cutanée naturelle enrichie en Virus Herpes Humain 1, Souche KOS (ATCC® VR-1493 Réf. : FR-310 (IRR)), Virus Herpes Simplex Type 2, Souche MS (Réf. : 0810006CF, Zeptomatrix) et *Treponema pallidum*, Souche SS14 (Université de Washington) à une concentration 3xLoD. La stabilité a été analysée au moyen de trois tests différents : stabilité primaire de l'échantillon primaire avec stabilité dans le SBT à 2 ± 2 °C et 25 ± 2 °C, stabilité de l'échantillon primaire à -20 ± 2 °C et cycles congélation (-80 °C) - décongélation (25 °C). Les résultats ont montré une bonne performance des échantillons stockés dans toutes les conditions testées. En conclusion, en ce qui concerne la stabilité des échantillons primaires, des échantillons de lésions cutanées naturelles sont stables après 48 heures à 2 ± 2 °C et 25 ± 2 °C. En ce qui concerne la stabilité dans le SBT, les échantillons sont stables après 7 jours dans le SBT à 2 ± 2 °C et 25 ± 2 °C (après avoir passé jusqu'à 48 h à 2 ± 2 °C et 25 ± 2 °C avant l'ajout au SBT). Par ailleurs, les échantillons sont stables après 6 mois de stockage à -20 ± 2 °C et pendant au moins 5 cycles de congélation-décongélation.

8.2. Préparation de l'échantillon et extraction du DNA

Préparez l'échantillon selon les recommandations figurant dans la notice d'utilisation du kit d'extraction utilisé, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Pipettez 500 µL de l'échantillon dans un BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube et fermez le tube avec un bouchon à septum. Mélangez l'échantillon soigneusement avant de l'agiter à haute vitesse au vortex pendant 1 minute. Poursuivez avec le BD MAX™ System Operation.

³ Sánchez-Romero M.I., García-Lechuz Moya J.M., González López J.J. et Orta Mira N. Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. *Enfermedades Infecc. y Microbiol. Clin. (éd. anglaise)* 37, 127-134 (2019).

Remarque : Assurez-vous que l'agitation au vortex est effectuée quelques minutes avant de lancer l'analyse. Si le même BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube est utilisé pour réaliser un nouveau test, il est recommandé d'agiter le tube manuellement pendant quelques minutes avant de lancer le test, afin d'assurer une homogénéisation correcte de l'échantillon.

Remarque : l'utilisateur devra élaborer et valider des procédures de préparation de l'extraction spécifiques à l'application et que certains autres échantillons peuvent nécessiter un prétraitement.

8.3. Protocole PCR

Remarque : veuillez consulter la notice d'utilisation du BD MAX™ System pour des instructions détaillées.

8.3.1. Création d'un programme de test PCR pour VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System

Remarque : Si vous avez déjà créé le test pour le VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, vous pouvez ignorer l'étape 8.3.1 et passer directement à l'étape 8.3.2.

- 1) Sur l'écran « Run » (Exécuter) du BD MAX™ System, sélectionnez l'onglet « Test Editor » (Éditeur de test).
- 2) Cliquez sur la touche « Create » (Créer).

Dans l'onglet « Basic Information » (Informations de base) :

- 3) Dans le champ « Test Name » (Nom du test), attribuez un nom à votre test, par exemple VIASURE HHT.

Remarque : Le nom du test doit être unique et comporter au maximum vingt caractères.

- 4) Dans le menu déroulant « Extraction Type » (Type d'extraction), sélectionnez « ExK TNA-3 ».
- 5) Dans le menu déroulant « Master Mix Format » (Format Master Mix), sélectionnez « Type 5: Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer » (MM lyophilisé concentré avec tampon de réhydratation).
- 6) Dans le champ « Sample Extraction Parameters » (Paramètres d'extraction de l'échantillon), sélectionnez « User Defined » (Défini par l'utilisateur) et réglez les valeurs des paramètres suivants (tableau 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Paramètres d'extraction de l'échantillon)	<i>Value (units)</i> (Valeur [unités])
Lysis Heat Time (Temps de lyse)	15 (min)
Lysis Temperature (Température de lyse)	55 (°C)
Sample Tip Height (Profondeur de pointe de l'échantillon)	1 600 (steps)
Sample Volume (Volume de l'échantillon)	475 (µL)
Wash Volume (Volume de lavage)	500 (µL)
Neutralization Volume (Volume de neutralisation)	S.O.
DNase Heat Time (Temps de chaleur pour la DNase)	S.O.

Tableau 4. Paramètres de l'extraction de l'échantillon réalisée avec BD MAX™ ExK™ TNA-3.

- 7) Dans le champ « Ct Calculation » (Calcul Ct), sélectionnez « Call Ct at Threshold Crossing » (Résultats Ct au croisement du seuil), sélectionné par défaut.
- 8) Si vous utilisez une version logicielle 5.00 ou supérieure et si vous disposez de tubes « Snap-In » (à clipser) avec un opercule à code-barres, sélectionnez la configuration suivante dans le champ « Custom Barcodes » (codes personnalisés) :
- « Snap-In 2 Barcode » (Code-barres Snap-In 2) : 1E (concernant *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* reaction tube).
 - « Snap-In 3 Barcode » (Code-barres Snap-In 3) : 11 (pour le Rehydration Buffer Tube).

Sous l'onglet « PCR Settings » (Réglages PCR) :

- 9) Sous l'onglet « PCR settings » (Réglages PCR), saisissez également les paramètres suivants décrits dans le tableau 5 : « Alias » (jusqu'à sept caractères alphanumériques), « PCR Gain » (Gain PCR), « Threshold » (Seuil), « Ct Min » et « Ct Max ».

Channel (Canal)	Alias (Pseudo)	PCR Gain (Gain PCR)	Threshold (Seuil)	Ct Min (Ct Min)	Ct Max (Ct Max)
475/520 (FAM)	HSV1	40	200	0	40
530/565 (HEX)	HSV2	60	200	0	40
585/630 (ROX)	EIC	40	200	0	40
630/665 (Cy5)	TRE	60	200	0	40
680/715 (Cy5.5)	-	0	0	0	0

Tableau 5. PCR settings (Réglages PCR).

Remarque : il est recommandé de définir les valeurs seuils minimales indiquées ci-dessus comme point de départ pour chaque canal, mais les réglages finaux doivent être définis par l'utilisateur final lors de l'interprétation des résultats afin de garantir que les seuils se situent dans la phase exponentielle des courbes de fluorescence et au-dessus de tout signal de fond. La valeur seuil peut varier selon les instruments en raison des différentes intensités de signal.

- 10) Sous l'onglet « Color compensation » (Compensation de couleur), saisissez les paramètres suivants (tableau 6).

		False Receiving Channel (Canal de fausse réception)				
Excitation Channel (Canal d'excitation)	Channel (Canal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
	475/520	-	4	0	0	0
	530/565	0	-	0	0	0
	585/630	0	0	-	4	0
	630/665	0	0	0	-	0
	680/715	0	0	0	0	-

Tableau 6. Paramètres « Color compensation » (Compensation des couleurs).

Sous l'onglet « Melt Settings » (Paramètres Melt), aucune action n'est nécessaire, il n'est pas applicable à ce produit.

Sous l'onglet « Test Steps » (Étapes du test) :

- 11) Saisissez le nom de l'étape (jusqu'à vingt caractères) et définissez les paramètres suivants pour chaque étape du protocole PCR : « Profile Type » (Type de profil), « Cycles », « Time » (Durée) et « Temperature » (Température), puis sélectionnez le champ « Detect » (Détecter) pour définir l'étape de détection (tableau 7). Cliquez sur le

bouton « Add » (Ajouter) pour ajouter une nouvelle étape, et répétez l'opération jusqu'à ce que toutes les étapes nécessaires soient définies.

Remarque : Le champ « Type » doit être vide.

Step (Étape)	Step name (Nom de l'étape)	Profile Type (Type de profil)	Cycles (Cycles)	Time (s) (Temps [s])	Temperature (Température)	Detect (Détection)
Initial denaturation (Dénaturation initiale)	IN-denaturation	Hold	1	120	98 °C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Dénaturation et appariement/extension (collecte de données))	Annealing/Extension	2-Temperature	45	10	95 °C	-
				41	63 °C	✓

Tableau 7. Protocole PCR.

Sous l'onglet « Result Logic » (Logique des résultats) :

- 12) Dans le champ « Target » (Cible), nommez votre cible, c'est-à-dire HSV1 (utilisez jusqu'à sept caractères alphanumériques). Répétez les étapes 12 à 15 pour chaque cible (c'est-à-dire HSV2 ou TRE) en suivant les tableaux spécifiques à la cible définie.
- 13) Cliquez sur la case à cocher « Analyze » (Analyser) pour inclure les longueurs d'onde souhaitées (canaux PCR) dans l'analyse du résultat de la cible (Tableaux 8 à 10).

Wavelength (Longueur d'onde)	Alias (Pseudo)	Type (Type)	Analyze (Analyse)
475/520	HSV1	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Tableau 8. Sélection des canaux PCR dans l'onglet « Result logic » (Logique de résultat) pour la cible HSV1 (Virus Herpes Simplex 1).

Wavelength (Longueur d'onde)	Alias (Pseudo)	Type (Type)	Analyze (Analyse)
530/565	HSV2	PCR	✓
585/630	EIC	PCR	✓

Tableau 9. Sélection des canaux PCR dans l'onglet « Result logic » (Logique de résultat) pour la cible HSV2 (Virus Herpes Simplex 2).

Wavelength (Longueur d'onde)	Alias (Pseudo)	Type (Type)	Analyze (Analyse)
585/630	EIC	PCR	✓
630/665	TRE	PCR	✓

Tableau 10. Sélection des canaux PCR dans l'onglet « Result logic » (Logique de résultat) pour la cible TRE (*Treponema pallidum*).

- 14) Cliquez sur le bouton « Edit Logic » (Modifier logique).

- 15) La fenêtre « Edit Logic » (Modifier logique) répertorie toutes les combinaisons de types de résultats. Pour chaque ligne, dans le menu déroulant « Result » (Résultat), sélectionnez le résultat qui est appelé lorsque les conditions de cette ligne sont remplies, en vous référant aux tableaux 11 à 13.

Result (Résultat)	HSV1 (475/520)	EIC (585/630)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NÉG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 11. Liste de la combinaison de types de résultats et de la logique de résultat pour la cible HSV1 (Virus Herpes Simplex 1). Les résultats disponibles sont POS (positif), NÉG (négatif) et UNR (non résolu).

Result (Résultat)	HSV2 (530/565)	EIC (585/630)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NÉG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 12. Liste de la combinaison de types de résultats et de la logique de résultat pour la cible HSV2 (Virus Herpes Simplex 2). Les résultats disponibles sont POS (positif), NÉG (négatif) et UNR (non résolu).

Result (Résultat)	TRE (630/665)	EIC (585/630)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NÉG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 13. Liste de la combinaison de types de résultats et de la logique de résultat pour la cible TRE (*Treponema pallidum*). Les résultats disponibles sont POS (positif), NÉG (négatif) et UNR (non résolu).

Remarque : Conformément au Ct Max défini précédemment (tableau 5), le type de résultat pour les canaux HSV1 (475/520), HSV2 (530/565), EIC (585/630) et TRE (630/665) est considéré comme « Valid » (Valide) lorsque la valeur Ct obtenue est ≤ 40 ; et « Invalid » (Non valide) lorsque la valeur Ct obtenue est > 40 .

16) Cliquez sur le bouton « Save » (Enregistrer) pour enregistrer le test.

8.3.2. Préparation du portoir BD MAX™

- 1) Prenez une barrette unitaire de réactifs (Unitized Reagent Strips) du BD MAX™ ExK™ TNA-3 Kit pour chaque échantillon à tester. Tapotez doucement chaque barrette sur une surface dure afin de vous assurer que les liquides se trouvent au fond des tubes et chargez les barrettes sur les portoirs d'échantillons du BD MAX™ System.
- 2) Sortez le nombre nécessaire de tubes d'extraction BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (opercule blanc) de leur poche de protection. Clipsez le(s) tube(s) d'extraction (opercule blanc) dans la position correspondante sur la barrette TNA (clip position 1, code couleur blanc sur le portoir - voir figure 1). Expulsez l'excès d'air et scellez la poche avec la fermeture à glissière.
- 3) Déterminez et séparez le nombre approprié de tubes réactionnels de HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* reaction tubes (opercule 1E) et clipsez-les dans leur position sur la barrette (clip position 2, code couleur vert sur le portoir. voir figure 1).
 - a. Expulsez l'excès d'air et scellez les poches en aluminium avec la fermeture à glissière.
 - b. Afin d'obtenir une réhydratation optimale, veuillez vous assurer que le produit lyophilisé se trouve au fond du tube et n'adhère pas à la partie supérieure du tube ou à l'opercule de scellage. Tapotez doucement chaque tube sur une surface dure afin de vous assurer que le produit se trouve intégralement au fond du tube.
- 4) Sortez le nombre nécessaire de Rehydration Buffer Tubes (opercule 11) et clipsez-les dans leur position sur la barrette (clip position 3, sans code couleur sur le portoir – voir figure 1).
 - a. Expulsez l'excès d'air et scellez la poche avec la fermeture à glissière.

- Figure 1. Bande de réactifs BD MAX™ TNA Reagent Strip (TNA) du kit d'extraction BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit.



- Remarque : Les codes de lot doivent être définis dans l'écran « Inventory » (Inventaire) avant de pouvoir être sélectionnés ici.

-
- 17

10) Cliquez sur « Start » (Démarrer) pour commencer la procédure.

8.3.4. Rapport des résultats BD MAX™

- 1) Dans la barre de menu, cliquez sur la touche « Results » (Résultats).
- 2) Faites un double-clic sur votre programme dans la liste ou appuyez sur la « View » (Aperçu).
- 3) Les boutons « Print » (Imprimer) et « Export » (Exporter) au bas de l'écran seront activés.

Pour imprimer les résultats :

1. Cliquez sur le bouton « Print » (Imprimer).
2. Dans la fenêtre d'aperçu « Print » (Imprimer) du rapport d'exécution, sélectionnez : « Run Details » (Détails du programme), « Test Details » (Détails du test) et « Plot » (Tracé).
3. Cliquez sur « Print » (Imprimer) pour imprimer le rapport, ou cliquez sur « Export » (Exporter) pour exporter un fichier PDF du rapport vers une clé USB.

Pour exporter les résultats :

1. Cliquez sur le bouton « Export » (Exporter) pour transférer le rapport (fichier PDF et CSV) vers une clé USB.
2. Lorsque l'exportation est terminée, l'icône de réussite ou d'échec apparaît dans la fenêtre « Results Export » (Exportation des résultats).

9. Interprétation des résultats

Pour plus de détails sur la manière d'analyser les données, veuillez consulter la notice d'utilisation du BD MAX™ System.

L'analyse des données est effectuée par le logiciel BD MAX™ selon les instructions du fabricant. Le logiciel BD MAX™ rapporte les valeurs Ct et les courbes d'amplification pour chaque canal détecteur de chaque échantillon testé de la manière suivante :

- Une valeur Ct de « 0 » indique qu'il n'y a pas de valeur Ct calculée par le logiciel avec le seuil spécifié (voir tableau 5). Une courbe d'amplification de l'échantillon affichant une valeur Ct de « 0 » doit faire l'objet d'un examen manuel.
- Une valeur Ct de -1 indique qu'aucun processus d'amplification n'a eu lieu, qu'aucune valeur Ct n'a été calculée par le logiciel ou que la valeur Ct calculée est inférieure au seuil spécifié ou supérieure à la valeur Ct Max établie (valeur limite).
- Toute autre valeur Ct doit être interprétée en corrélation avec la courbe d'amplification et selon la logique des résultats définie, en suivant les directives d'interprétation énoncées dans le tableau 14.

Vérifiez le signal du contrôle interne endogène (EIC) pour vous assurer du fonctionnement correct du mélange d'amplification. Vérifiez en outre qu'il n'y a pas de rapport de défaillance du BD MAX™ System.

Il convient de lire et d'analyser les résultats à l'aide du tableau suivant :

HSV-1 (nom de la cible : HSV1)	HSV-2 (nom de la cible : HSV2)	<i>T. pallidum</i> (nom de la cible : TRE)	Interprétation pour chaque échantillon individuel de patient
POS	POS	POS	DNA de HSV-1, HSV-2 et <i>Treponema pallidum</i> détecté.
POS	POS	NÉG	DNA de HSV-1 et HSV-2 détecté. DNA de <i>Treponema pallidum</i> non détecté.
POS	NÉG	POS	DNA de HSV-1 et <i>Treponema pallidum</i> détecté. DNA de HSV-2 non détecté.
NÉG	POS	POS	DNA de HSV-2 et <i>Treponema pallidum</i> détecté. DNA de HSV-1 non détecté.
POS	NÉG	NÉG	DNA de HSV-1 détecté. DNA de HSV-2 et <i>Treponema pallidum</i> non détecté.
NÉG	POS	NÉG	DNA de HSV-2 détecté. DNA de HSV-1 et <i>Treponema pallidum</i> non détecté.
NÉG	NÉG	POS	DNA de <i>Treponema pallidum</i> détecté. DNA de HSV-1 et HSV-2 non détecté.
NÉG	NÉG	NÉG	DNA de HSV-1, HSV-2 et <i>Treponema pallidum</i> non détecté.
UNR	UNR	UNR	Résultat non résolu (UNR) obtenu en présence d'inhibiteurs de la réaction PCR ou en cas de problème d'ordre général (non signalé par un code d'erreur) survenu lors du traitement de l'échantillon et/ou des étapes d'amplification. ¹
IND	IND	IND	Résultat de test indéterminé (IND, Indeterminate assay result) En raison d'une défaillance du BD MAX™ System. Résultat du test affiché lorsqu'une défaillance de l'instrument est liée à un code d'erreur. ²
INC	INC	INC	Résultat de test incomplet (INC, Incomplete assay result) En raison d'une défaillance du BD MAX™ System. Résultat du test affiché en cas de défaillance de l'exécution complète. ²

Tableau 14. Interprétation de l'échantillon.

1 Le contrôle interne endogène (EIC) doit présenter un signal d'amplification avec une valeur Ct ≤ 40 pour être pris en compte. En l'absence de signal pour EIC ou la valeur Ct > 40, le résultat est considéré non résolu (UNR) et un nouveau test est nécessaire. Il est recommandé de répéter le test à partir du même Sample Buffer Tube (SBT), du même échantillon en préparant un nouveau SBT ou d'un nouvel échantillon (le plus concentré possible). Il est également possible que le résultat non résolu (UNR) soit dû à la présence d'inhibiteurs dans la réaction PCR. Dans ce cas, il est recommandé de diluer ces échantillons au 1/10.

REMARQUE : les échantillons de lésions cutanées naturelles peuvent être conservés sans transfert dans le SBT pendant 48 heures s'ils sont stockés à 2 ± 2 °C - 25 ± 2 °C (exprimé en ESwab® de Copan). En cas de nouveau test à partir du même SBT, il est recommandé d'agiter manuellement le SBT pour assurer une homogénéisation correcte de l'échantillon. Veuillez remarquer que les échantillons de lésions cutanées naturelles peuvent être conservés dans le SBT pendant 7 jours maximum à 2 ± 2 °C - 25 ± 2 °C.

2 Des résultats indéterminés (IND) ou incomplets (INC) peuvent être obtenus en raison d'une défaillance du système et un nouveau test est alors nécessaire. Consultez la notice d'utilisation du BD MAX™ System pour l'interprétation des codes d'avertissement et d'erreur.

Remarque : Lors de l'utilisation de contrôles externes, ceux-ci doivent donner les résultats attendus suivants : négatif pour le ENC et positif pour le EPC (les échantillons connus positifs ne doivent être positifs que pour le ou les microorganismes présents dans l'échantillon). Un ENC qui donne un résultat de test positif indique une contamination ou une erreur de manipulation de l'échantillon. Un EPC qui donne un résultat négatif indique un problème de manipulation ou de préparation de l'échantillon. Vérifiez la technique de manipulation ou de préparation de l'échantillon. En cas d'échec d'un contrôle externe, un nouveau test est nécessaire.

Si le résultat reste ambigu, il est recommandé de revoir la notice d'utilisation, le processus d'extraction mis en œuvre par l'utilisateur, de vérifier la bonne exécution de chaque étape de la PCR et de revoir les paramètres, et enfin, de vérifier la forme sigmoïde de la courbe et l'intensité de la fluorescence.

Les résultats du test doivent être évalués par un professionnel de la santé en tenant compte des antécédents médicaux, des symptômes cliniques et d'autres tests diagnostiques.

10. Limitations du test

- Les résultats du test doivent être évalués par un professionnel de la santé en tenant compte des antécédents médicaux, des symptômes cliniques et d'autres tests diagnostiques.
- Bien que ce test puisse être utilisé avec d'autres types d'échantillons, il a uniquement été validé avec des échantillons de lésions cutanées anogénitales et orales.
- Pour une bonne exécution du test, le produit lyophilisé doit se trouver au fond du tube et ne pas adhérer à la partie supérieure du tube ou à l'opercule de scellage. Tapotez doucement chaque tube sur une surface dure afin de vous assurer que le produit se trouve intégralement au fond du tube.
- Il se peut qu'un phénomène de diaphonie (crosstalk) soit observé dans les canaux vides du BD MAX™ System s'il n'y a pas de cible à détecter. Il est donc nécessaire de sélectionner uniquement les canaux servant à l'amplification lors de l'interprétation des résultats. Pour toute question, veuillez contacter viasuresupport@certest.es.
- La qualité du test dépend de la qualité de l'échantillon ; l'acide nucléique doit être correctement extrait des échantillons cliniques.
- Ce test est qualitatif et ne fournit pas de valeurs quantitatives ni n'indique le nombre d'organismes présents. Il n'est pas possible de corréler les valeurs Ct obtenues par PCR avec la concentration de l'échantillon, car elles dépendent du thermocycleur utilisé et de l'analyse elle-même.
- Il est possible que soient détectés des niveaux très faibles de cibles, inférieurs à la limite de détection, mais que les résultats ne soient pas reproductibles.
- Veuillez noter la plage de mesure prévue pour le test, car les échantillons dont la concentration est supérieure ou inférieure à cette plage peuvent donner des résultats erronés.
- Possibilité de faux positifs dus à une contamination croisée par des échantillons avec une suspicion de HSV-1, HSV-2 et/ou *T. pallidum* contenant de fortes concentrations du DNA cible ou à cause d'une contamination par transmission à partir de produits PCR de réactions antérieures.
- Les combinaisons spécifiques d'amorces et de sondes pour la détection du gène *UL1* de la *glycoprotéine L* de HSV-1, du gène *US4* de la *glycoprotéine G* de HSV-2 et du gène *16S rRNA* de *T. pallidum* utilisées dans le VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ne présentent pas d'homologies combinées significatives avec le génome humain, la microflore humaine ou d'autres microorganismes, susceptibles d'entraîner un résultat faux positif prévisible.
- Les résultats faux négatifs peuvent être le fait de plusieurs facteurs et de leurs combinaisons, notamment :
 - Des méthodes de prélèvement, de transport, de stockage et/ou de manipulation des échantillons inappropriées.

- Des procédures de traitement inappropriées (notamment l'extraction de DNA).
 - La dégradation du DNA durant l'expédition, le stockage et/ou le traitement de l'échantillon.
 - Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison de l'amorce ou de la sonde peuvent affecter la détection de variants nouveaux ou inconnus de HSV-1, HSV-2 et/ou *T. pallidum*.
 - Une charge microbienne dans l'échantillon inférieure à la limite de détection pour le test.
 - La présence d'inhibiteurs de qPCR ou d'autres types de substances interférentes. L'impact des vaccins, de certaines thérapies antivirales, des antibiotiques, des chimiothérapies ou des médicaments immunosuppresseurs ou antifongiques utilisés pour prévenir l'infection ou utilisés pendant le traitement de l'infection n'a pas été évalué.
 - L'effet de substances interférentes n'a été évalué que pour celles indiquées dans la section 12.5.1 (Étude des substances interférentes) de cette notice d'utilisation. Veuillez consulter cette section pour vérifier les substances endogènes et exogènes les plus courantes qui induisent une interférence totale ou partielle de la réaction qPCR. D'autres substances non indiquées dans cette partie pourraient conduire à des résultats erronés.
 - Le non-respect de la notice d'utilisation et de la procédure de test.
- Un résultat de test positif ne traduit pas nécessairement la présence de microorganismes viables et n'implique pas que ceux-ci soient infectieux ou soient les agents responsables des symptômes cliniques. Toutefois, un résultat positif indique la présence des séquences cibles de HSV-1, HSV-2 et/ou *T. pallidum*.
 - Un résultat négatif n'exclut pas la présence de DNA de HSV-1, HSV-2 et/ou *T. pallidum* dans un échantillon clinique et ne doit pas être utilisé comme seule base pour le traitement ou d'autres décisions de prise en charge du patient. Les types d'échantillons et le moment des pics de concentration microbienne optimaux pendant les infections causées par HSV-1, HSV-2 et/ou *T. pallidum* n'ont pas été déterminés. Le prélèvement de plusieurs échantillons (types et moments) sur un même patient peut s'avérer nécessaire pour détecter l'agent pathogène.
 - Si les tests de diagnostic pour d'autres maladies sexuellement transmissibles (MST) sont négatifs et que les observations cliniques, les antécédents du patient et les informations épidémiologiques suggèrent que l'infection par HSV-1, HSV-2 et/ou *T. pallidum* est possible, il convient alors d'envisager un résultat faux négatif et de discuter d'un nouveau test pour le patient.
 - Les valeurs de fluorescence peuvent varier en raison de multiples facteurs tels que : Équipement PCR (même s'il s'agit du même modèle), système d'extraction, type d'échantillon, traitement préalable de l'échantillon, etc., entre autres.
 - Les valeurs prédictives positives et négatives dépendent fortement de la prévalence dans tous les tests de diagnostic *in vitro*. Les performances du VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System peuvent varier en fonction de la prévalence et de la population testée.
 - En cas de résultats non résolus, indéterminés ou incomplets avec le VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, l'exécution d'un nouveau test est exigée. Les résultats non résolus peuvent découler de la présence d'inhibiteurs dans l'échantillon ou d'une réhydratation incorrecte du tube de mélange réactionnel lyophilisé. En cas de défaillance de l'instrument, les résultats obtenus seront indéterminés ou incomplets.

11. Contrôle qualité

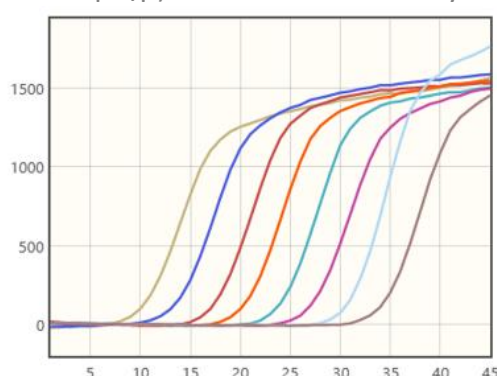
Le VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System contient, dans chaque tube réactionnel, un contrôle interne endogène (EIC) qui confirme la bonne performance de la technique. En outre, l'utilisation de contrôles externes (EPC et ENC) permet de confirmer les performances du test. Les contrôles externes ne sont pas utilisés par BD MAX™ System pour l'interprétation des résultats, mais sont considérés comme un échantillon. Le contrôle positif externe (EPC) est destiné à surveiller une éventuelle défaillance des réactifs du test, tandis que le contrôle négatif externe (ENC) est destiné à détecter une contamination de l'environnement ou des réactifs par des acides nucléiques cibles.

12. Caractéristiques des performances analytiques

12.1. Linéarité analytique

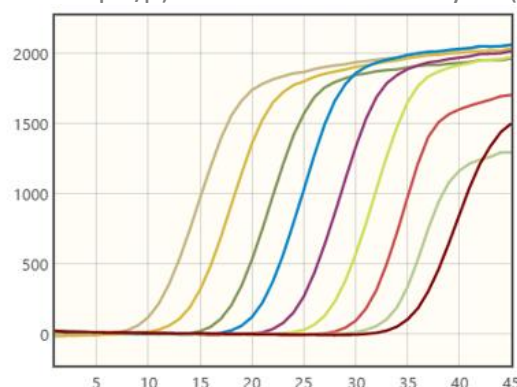
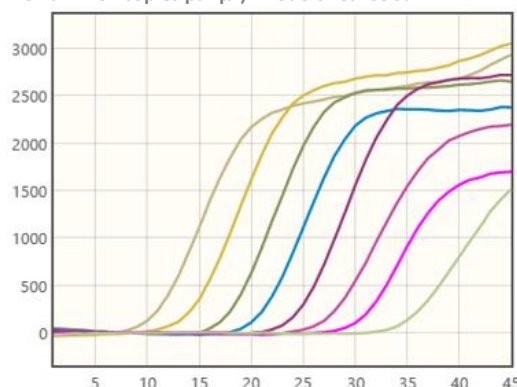
La linéarité du test a été déterminée et confirmée en testant une série de dilutions au 1:10 de matrice artificielle de lésion cutanée⁴ (Artificial Matrix for Cutaneous Lesion, Biochemazone BZ394) contenant une concentration connue (allant de 2E+07 à 2E+01 copies/μL) de DNA spécifique et synthétique appartenant à HSV-1, HSV-2 et *T. pallidum*. Un exemple de diagramme d'amplification obtenu à la suite d'un test est présenté ci-dessous :

Figure 2. Dilution en série du HSV-1 (2E+07 to 2E+01 copies/μL). Modèle réalisé sur BD MAX™ System (canal 475/520 [FAM]).



⁴ En raison de la disponibilité limitée d'échantillons d'écouvillons de lésions anogénitales et orales, une étude d'équivalence entre matrice naturelle et matrice artificielle a été réalisée pour confirmer que la matrice artificielle pouvait être utilisée dans les tests de validation. Par conséquent, les matrices naturelles et artificielles ont été testées et confirmées comme étant équivalentes.

Figure 3. Dilution en série du HSV-2 (2E+07 à 2E+01 copies/μl). Modèle réalisé sur BD MAX™ System (canal 530/565 [HEX]).

Figure 4. Dilution en série de *T. pallidum* (2E+07 à 2E+01 copies par μL). Modèle réalisé sur BD MAX™ System (canal 630/665 [Cy5]).

12.2. Sensibilité analytique

La sensibilité analytique est souvent appelée limite de détection (LoD). En pratique, les paramètres LoD et Limite de blanc (LoB) sont déterminés dans le cadre de l'évaluation de la sensibilité analytique.

12.2.1. Limite de blanc (LoB)

Pour déterminer la « limite de blanc » (LoB), un test de contrôle sans échantillon a été effectué en utilisant trois lots de VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, et 24 répliqués de trois types d'échantillons : échantillons négatifs de lésion cutanée naturelle, matrice artificielle de lésion cutanée et eau exempte de RNase/DNase.

L'absence de signal dans les canaux FAM, HEX et Cy5 a été vérifiée, ainsi que la présence de signal pour le contrôle interne endogène (EIC) dans le canal ROX avec la matrice négative (matrice de lésion cutanée naturelle ou simulée). En conclusion, les résultats obtenus ont confirmé que le produit ne génère pas d'amplifications non spécifiques dans les différentes matrices testées.

12.2.2. Limite de détection (LoD)

La limite de détection (LoD) du VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a été analysée avec trois lots en utilisant des échantillons de lésions cutanées naturelles. Les souches de référence utilisées étaient Virus Herpes Humain 1, Souche KOS (ATCC® VR-1493, Réf. : FR-310 (IRR)), Virus Herpes Simplex Type 2, Souche MS (Réf. :

0810006CF [Zeptomatrix]) et *Treponema pallidum*, Souche SS14 (Université de Washington). En conclusion, le VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a présenté une LoD de 2,52E+02 TCID50/mL pour HSV-1, 6,30E+00 TCID50/mL pour HSV-2 et 6,60E+03 cellules/mL pour *T. pallidum*, avec un taux de positivité $\geq 95\%$, dans des échantillons de lésions cutanées naturelles.

12.3. Plage de mesure

La plage de mesure du test a été déterminée en testant une série de dilutions au dixième contenant une concentration connue de DNA spécifique et synthétique appartenant au HSV-1, HSV-2 et *T. pallidum*. Les résultats ont permis de confirmer la détection correcte des cibles de 2E+07 à 2E+00 copies/ μ l pour les cibles HSV-1 et *T. pallidum*, et de 2E+07 à 2E-01 copies/ μ l pour la cible HSV-2.

En conclusion, la plage de mesure de VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a été déterminée avec succès, garantissant des résultats fiables, exacts et reproductibles sur un large spectre de charges virales/bactériennes, confirmant son utilité dans divers scénarios de diagnostic clinique.

12.4. Exactitude

12.4.1. Justesse

La justesse du VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a été évaluée à l'aide du matériel de référence ci-dessous.

1. Fragments de DNA synthétique

- Fragment de DNA synthétique pour le gène *UL1* de la glycoprotéine *L* de HSV-1 : HSV1.XPC, canal FAM.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *US4* de la glycoprotéine *G* de HSV-2 : HSV2.XPC, canal HEX.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *16S rRNA* de *T. pallidum* : TREXPC, canal Cy5.

Tous les fragments de DNA synthétique ont été correctement détectés dans le canal approprié.

2. The American Type Culture Collection (Collection américaine de cultures types) (ATCC®) :

Référence externe	Microorganisme	Nom du produit	Variété	Résultat
VR-1493	Virus Herpes Simplex 1	Human herpesvirus 1	Souche KOS	Détecté
VR-260	Virus Herpes Simplex 1	Human Herpesvirus 1	Souche HF	Détecté
VR-539	Virus Herpes Simplex 1	Human Herpesvirus 1	Souche MacIntyre	Détecté
VR-733	Virus Herpes Simplex 1	Human Herpesvirus 1	Souche F	Détecté
VR-3393	Virus Herpes Simplex 2	Human Herpesvirus 2	Souche G	Détecté
VR-1779	Virus Herpes Simplex 2	Human Herpesvirus 2	Souche ATCC-2011-2	Détecté
BAA-2642SD	<i>Treponema pallidum</i>	Quantitative Synthetic <i>Treponema pallidum</i> DNA	S.O.	Non détecté

Tableau 15. Matériel de référence de l'American Type Culture Collection (ATCC®).

Toutes les souches de l'ATCC ont été correctement détectées dans le canal approprié et l'EIC a montré une amplification avec une valeur $Ct \leq 40$ à l'exception du « Quantitative Synthetic *Treponema pallidum* DNA » (code ATCC BAA-2642SD). Ce DNA synthétique comprend des fragments des gènes *polA*, *23S*, *16S*, *flaA*, *47kDa* et *bmp*, cependant, l'absence de détection à très haute concentration (jusqu'à $4,70E+04$ copies/ μ L) en utilisant le test VIASURE suggère que sa région cible au sein du gène *16S* n'est pas incluse dans le DNA synthétique de l'ATCC. Par conséquent, il ne peut pas être utilisé comme matériel de référence.

3. National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)

Référence externe	Microorganisme	Nom du produit	Variété	Résultat
16/368	Virus Herpes Simplex 1	1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1)	S.O.	Détecté
17/122	Virus Herpes Simplex 2	1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-2 (HSV-2)	S.O.	Détecté

Tableau 16. Matériau de référence de l'Institut national des normes et contrôles biologiques (NIBSC).

Toutes les souches de l'NIBSC ont été correctement détectées dans le canal approprié et l'EIC a montré une amplification avec une valeur $Ct \leq 40$.

4. Matériau de contrôle

Référence externe	Provenance	Microorganisme	Nom du produit	Variété	Résultat
0810006CF	ZeptoMetrix	Virus Herpes Simplex 2	Herpes Simplex Virus Type 2 (HSV-2)	Souche MS	Détecté
MBC109	Vircell S.L.	<i>Treponema pallidum</i>	AMPLIRUN® TREPONEMA PALLIDUM DNA CONTROL	S.O.	Détecté
S.O.	Université de Washington	<i>Treponema pallidum</i>	Heat-killed <i>Treponema pallidum</i>	Souche Nichols	Détecté
S.O.	Université de Washington	<i>Treponema pallidum</i>	Heat-killed <i>Treponema pallidum</i>	Souche SS14	Détecté

Tableau 17. Matériau de contrôle pour HSV-2 et *T. pallidum* de Vircell S.L., ZeptoMetrix et Université de Washington.

Toutes les souches et les matériaux de référence ont été correctement détectées dans le canal approprié et l'EIC a montré une amplification avec une valeur $Ct \leq 40$.

12.4.2. Fidélité

Pour déterminer la fidélité du VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System, des tests intra-test (répétabilité), inter-tests, inter-lots et inter-équipements (reproductibilité) ont été effectués avec une matrice artificielle de lésion cutanée enrichie avec les Souches de référence Virus Herpes Humain 1, Souche KOS (ATCC® VR-1493, Réf. : FR-310 (IRR)), Virus Herpes Simplex Type 2, Souche MS (Réf. : 0810006CF [Zeptomatrix]) et *Treponema pallidum*, Souche SS14 (Université de Washington).

Intra-essai

Le test intra-essai comportait l'analyse de six répliquats de tous les échantillons lors du même passage avec le VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Cible	Canal	Type d'échantillon	Ct (\bar{x})	σ	CV %
HSV-1	475/520 (FAM)	3 x LoD	33,32	0,49	1,48
		5xLoD	32,93	0,12	0,37
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.
HSV-2	530/565 (HEX)	3 x LoD	31,08	0,40	1,28
		5xLoD	32,00	0,24	0,74
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.
EIC	585/630 (ROX)	3 x LoD	30,42	0,15	0,48
		5xLoD	29,90	0,48	1,60
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.
<i>Treponema pallidum</i>	630/665 (Cy5)	3 x LoD	34,17	0,55	1,61
		5xLoD	31,95	0,43	1,35
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.

Tableau 18. Résultats intra-essai pour VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = cycle seuil. (\bar{x}) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, NEG = négatif, S.O. = sans objet.

Inter-essai

L'inter-essai a été réalisé en testant quatre réplicats d'échantillons différents sur trois jours différents par trois opérateurs différents avec VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Cible	Canal	Type d'échantillon	Ct (\bar{x})	σ	CV %
HSV-1	475/520 (FAM)	3 x LoD	33,21	0,47	1,41
		5xLoD	31,85	0,78	2,43
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.
HSV-2	530/565 (HEX)	3 x LoD	33,83	0,56	1,66
		5xLoD	32,68	0,48	1,48
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.
EIC	585/630 (ROX)	3 x LoD	29,82	0,43	1,43
		5xLoD	29,94	0,40	1,33
		Contrôle négatif	29,78	0,46	1,54
<i>Treponema pallidum</i>	630/665 (Cy5)	3 x LoD	32,61	1,07	3,29
		5xLoD	31,86	1,24	3,88
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.

Tableau 19. Résultats intra-essai pour VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = cycle seuil. (\bar{x}) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, NEG = négatif, S.O. = sans objet.

Inter-lots

Les valeurs inter-lots ont été déterminées par l'analyse de six réplicats des différents échantillons avec trois lots de VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Cible	Canal	Type d'échantillon	Ct (\bar{x})	σ	CV %
HSV-1	475/520 (FAM)	3 x LoD	33,26	0,46	1,38
		5xLoD	33,29	0,33	1,00
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.
HSV-2	530/565 (HEX)	3 x LoD	30,98	0,86	2,78
		5xLoD	32,70	0,58	1,79
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.
EIC	585/630 (ROX)	3 x LoD	30,04	0,57	1,89
		5xLoD	30,26	0,56	1,86
		Contrôle négatif	29,97	0,69	2,31
<i>Treponema pallidum</i>	630/665 (Cy5)	3 x LoD	33,53	0,76	2,26
		5xLoD	32,24	0,55	1,69
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.

Tableau 20. Résultats inter-lots pour VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = cycle seuil. (\bar{x}) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, NEG = négatif, S.O. = sans objet.

Inter-thermocycleur

Les valeurs inter-thermocycleur ont été déterminées avec quatre réplicats des mêmes échantillons utilisés pour l'intra-essai, l'inter-essai et l'inter-lots, en utilisant VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System et trois systèmes BD MAX™ System différents. Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Cible	Canal	Type d'échantillon	Ct (\bar{x})	σ	CV %
HSV-1	475/520 (FAM)	3 x LoD	33,71	0,52	1,54
		5xLoD	32,68	0,59	1,79
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.
HSV-2	530/565 (HEX)	3 x LoD	33,56	0,80	2,39
		5xLoD	32,65	0,42	1,28
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.
EIC	585/630 (ROX)	3 x LoD	29,51	0,77	2,59
		5xLoD	29,23	0,39	1,33
		Contrôle négatif	29,98	0,52	1,75
<i>Treponema pallidum</i>	630/665 (Cy5)	3 x LoD	32,28	0,62	1,93
		5xLoD	31,19	0,40	1,29
		Contrôle négatif	NÉG	S.O.	S.O.

Tableau 21. Résultats inter-thermocycleur pour VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (Ct) = cycle seuil. (\bar{x}) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, NEG = négatif, S.O. = sans objet.

En conclusion, l'étude de fidélité a confirmé les performances fiables et l'homogénéité du VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

12.4.3. Exactitude

L'expérience d'exactitude a été réalisée par l'analyse de panels provenant de programmes d'évaluation externe de la qualité (EQA) : Des échantillons contenant HSV-1, HSV-2 ou *T. pallidum*, parmi d'autres microorganismes non cibles, ont été analysés. Tous les résultats des tests, présentés dans le tableau suivant, ont été comparés aux rapports finaux fournis par les organisateurs des programmes EQA.

Cible	ORA	TP	TN	FP	FN	PPA	NPA
HSV-1	1 (0,51–1)	4	30	0	0	1 (0,40–1)	1 (0,88–1)
HSV-2	1 (0,90–1)	12	22	0	0	1 (0,74–1)	1 (0,85–1)
<i>Treponema pallidum</i>	0,97 (0,85–0,99)	7	26	0	1	0,88 (0,47–0,99)	1 (0,87–1)

Tableau 22. Résultats d'exactitude en utilisant VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. (ORA) = concordance générale, (TP) = vrai positif, (TN) = vrai négatif, (FP) = faux positif, (FN) = faux négatif, (PPA) = pourcentage de concordance positif, (NPA) = pourcentage de concordance négatif.

En conclusion, le VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System fournit une grande exactitude dans la détection du DNA de HSV-1, HSV-2 et *T. pallidum*, avec d'excellentes valeurs NPA et PPA pour toutes les souches testées.

12.5. Spécificité et réactivité analytiques

La spécificité et la réactivité analytiques ont été évaluées pour le VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System *in silico* et de manière expérimentale au moyen de différents matériaux de départ, tels que des souches de référence certifiées, des RNA/DNA de référence certifiés et du matériel provenant des programmes d'EQA.

12.5.1. Spécificité analytique

La spécificité analytique est la capacité du test à détecter la cible prévue. Il existe quatre composantes à prendre en compte pour la spécificité analytique : réactivité croisée, co-infection, interférence d'agents microbiens et interférence de substances. La réactivité croisée peut survenir lorsque des microorganismes génétiquement apparentés sont présents dans un échantillon de patient, tandis que l'interférence microbienne peut avoir lieu si ces microorganismes apparentés d'un point de vue génétique ont une influence sur la détection des microorganismes cibles lorsqu'ils sont présents. Également, l'étude de co-infection vise à évaluer si les micro-organismes cibles à différentes concentrations dans le même échantillon pouvaient altérer la détection entre elles. Finalement, l'interférence de substances peut avoir lieu si la présence de substances spécifiques potentiellement présentes dans la matrice de l'échantillon affecte les performances de la qPCR.

Analyse de la réactivité croisée *in silico*

La réactivité croisée a été évaluée en utilisant les séquences de référence des agents pathogènes de la NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) et à l'aide d'outils d'alignement tels que BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) un logiciel d'analyse bio-informatique interne.

Les résultats montrés indiquent uniquement les séquences dont le pourcentage d'homologie est supérieur à 80 %. Les séquences alignées présentant un score d'alignement inférieur à 80 % d'homologie ont été jugées peu susceptibles d'être détectées.

Treponema pallidum

L'ensemble des séquences analysées présentent une homologie inférieure à 80 % avec le jeu d'amorces et de sondes de *T. pallidum*.

L'analyse *in silico* de la réactivité croisée a révélé une homologie de 100 % avec *Treponema paraluiscliviculi* (Taxid ID : 53435 et 545766). Cependant, selon une recherche dans la base de données NCBI, ces séquences se sont avérées hétérotypiques ou synonymes sur le plan taxonomique et correspondent également à *Treponema pallidum*.

Par conséquent, aucune des séquences analysées, y compris celles présentant une homologie supérieure à 80 %, ne peut affecter la détection correcte du *Treponema pallidum*.

Alphaherpesvirus humain 1

L'ensemble des séquences analysées présentent une homologie inférieure à 80 % avec le jeu d'amorces et de sondes des HSV-1.

L'analyse *in silico* de la réactivité croisée a révélé une homologie de 98,33 % avec la souche 105640 de l'alphaherpesvirus 1 du chimpanzé (Taxid ID : 332937). L'hôte de cette souche d'alphaherpesvirus est le chimpanzé (*Pan troglodytes*). Les herpesvirus sont hautement spécifiques à leur hôte et partagent une évolution synchrone prolongée avec leurs hôtes. Ce virus n'a pas été identifié chez l'homme et n'est pas considéré comme un virus zoonotique pour le moment, il n'interfère donc pas dans la détection du HSV-1.

Par conséquent, aucune des séquences analysées, y compris celles présentant une homologie supérieure à 80 %, ne peut affecter la détection correcte du HSV-1.

Alphaherpesvirus humain 2

L'ensemble des séquences analysées présentent une homologie inférieure à 80 % avec le jeu d'amorces et de sondes des HSV-2.

En conclusion, les cibles HSV-1, HSV-2 et *T. pallidum* du VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ne devraient pas entraîner de faux positifs dans la détection de *Treponema pallidum*, de l'alphaherpesvirus humain 1 et de l'alphaherpesvirus humain 2 lorsque d'autres organismes sont présents.

Spécificité analytique, analyse expérimentale

Réactivité croisée, analyse expérimentale

La réactivité croisée du test VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a été vérifiée en testant un panel de micro-organismes différents, associés soit à des symptômes d'infections sexuellement transmissibles,

soit présents dans l'environnement, ainsi que des micro-organismes pertinents d'un point de vue phylogénétique. Lorsque cela était possible et lorsque les données de concentration étaient disponibles, les microorganismes interférents ont été évalués à des niveaux pertinents sur le plan médical (généralement 1E+05 - 1E+06 cfu [unités formant une colonie, pour colony-forming unit]/mL pour les bactéries/champignons et 1E+04 - 1E+05 pfu [unités formant une plaque, pour plaque-forming unit]/mL pour les virus). Aucune réactivité croisée n'a été détectée entre l'un quelconque des microorganismes testés suivants, à l'exception des micro-organismes cibles.

Test de réactivité croisée					
<i>Acinetobacter baumannii</i> 5377 [NCDC KC 755]	-	<i>Haemophilus influenzae</i> Souche L-378	-	<i>Listeria monocytogenes</i> Serovar 4b	-
<i>Aspergillus fumigatus</i> Fresenius 1863 CECT 2071	-	Hépatite A HM175/18f	-	Virus de la variole du singe	-
<i>Atopobium vaginae</i>	-	Virus Herpes Simplex Type 1 1st WHO IS for HSV-1	+	<i>Mycoplasma genitalium</i> Souche M30	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	Virus Herpes Simplex Type 2 1st WHO IS for HSV-2	+	<i>Mycoplasma hominis</i> Souche LBD-4	-
<i>Candida albicans</i>	-	Virus Herpes 2 Souche MS	+	<i>Neisseria gonorrhoeae</i> Souche NCTC 8375 [B 5025]	-
<i>Candida glabrata</i>	-	Virus Herpes Humain 1 Souche HF	+	<i>Neisseria meningitidis</i> Souche M2091	-
<i>Candida krusei</i> Issatchenkia orientalis Kudryavtsev 1960 CECT 1433	-	Virus Herpes Humain 1 Souche F	+	<i>Proteus mirabilis</i> NCDC 2059-70	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	Virus Herpes Humain 1 Souche KOS (ATCC-VR-1493)	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Souche RH 815	-
<i>Candida tropicalis</i> (Castellani) Berkhout 1923 CECT 1005	-	Virus Herpes Humain 1 Souche MacIntyre	+	<i>Serratia marcescens</i> Subsp. marcescens	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> Serovar E	-	Virus Herpes Humain 2 Souche ATCC-2011-2	+	<i>Staphylococcus aureus</i> Subsp. Aureus, Souche Seattle 1945	-
<i>Citrobacter freundii</i>	-	Virus Herpes Humain 2 Souche G	+	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> Souche 810-2	-
<i>Enterobacter cloacae</i> subsp. cloacae	-	Papillomavirus humain 16	-	<i>Treponema pallidum</i> DNA Control, Vircell	+
<i>Enterococcus faecalis</i> Souche Type CECT 8120	-	Papillomavirus humain 18	-	<i>Treponema pallidum</i> Souche Nichols	+
<i>Enterococcus faecium</i> vanA, Souche CECT 5253	-	<i>Klebsiella oxytoca</i> Souche MIT 10-5243	-	<i>Treponema pallidum</i> Souche SS14	+
Virus Epstein-Barr 1st WHO IS for Epstein-Barr Virus EBV	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> Souche UHKPC57	-	<i>Trichomonas vaginalis</i> , QCMD TV18S-01	-
<i>Escherichia coli</i> Souche Type	-	<i>Listeria innocua</i>	-	<i>Ureaplasma urealyticum</i> Souche Type 960 (CX8) [960, CIP 103755, NCTC 10177]	-
<i>Gardnerella vaginalis</i> 594 [NCTC 10287]	-	<i>Listeria ivanovii</i> Subsp. londoniensis	-	Virus Varicella-Zoster Souche Ellen	-
<i>Haemophilus ducreyi</i> Classe I	-	<i>Listeria monocytogenes</i> Serovar 1/2	-		

Tableau 23. Microorganismes pathogènes de référence inclus dans le test de réactivité croisée. Le résultat + ou - fait référence au résultat positif ou négatif obtenu dans les différents canaux en fonction de la cible détectée. Dans le cas où un micro-organisme testé est l'une des cibles détectées par le dispositif, un résultat positif est obtenu dans le canal correspondant, mais un résultat négatif est obtenu dans les autres canaux.

En conclusion, les résultats des tests de réactivité croisée indiquent une spécificité élevée du VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ce qui permet de réduire le risque de faux positifs. Puisqu'aucune amplification non spécifique n'a été observée avec d'autres micro-organismes apparentés, on peut suggérer que le dispositif est capable d'identifier avec exactitude les virus cibles.

Étude de la co-infection

Une étude de la co-infection a été réalisée en utilisant Virus Herpes Humain 1, Souche KOS (ATCC® VR-1493, Réf. : FR-310 (IRR)), Virus Herpes Simplex Type 2, Souche MS (Réf. : 0810006CF [Zeptomatrix]) et *Treponema pallidum*, Souche SS14 (Université de Washington) à différentes concentrations, pour confirmer que la présence de l'un d'entre eux, indépendamment de la concentration, n'interfère pas avec la détection des autres. Trois échantillons matrice négative de lésion cutanée naturelle enrichis avec le matériau de référence, une cible à faible concentration (3xLoD) et les autres cibles à une très forte concentration, généralement 1E+04 – 1E+05 unités/mL, si possible, ont été analysés.

Les résultats confirment que la détection des micro-organismes cibles n'est pas altérée lorsqu'elle est analysée avec le VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System en cas de co-infection à différentes concentrations.

Étude des agents microbiens interférents

Une étude sur les agents microbiens interférents a été réalisée pour analyser les agents microbiens interférents potentiels pour VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Un panel de différents microorganismes pertinents d'un point de vue clinique, environnemental et phylogénétique a été testé en présence des cibles HSV-1, HSV-2 et *T. pallidum* en utilisant une matrice négative de lésion cutanée naturelle enrichie en Virus Herpes Humain 1, Souche KOS (ATCC® VR-1493, Réf. : FR-310 (IRR)), Virus Herpes Simplex Type 2, Souche MS (Réf. : 0810006CF [Zeptomatrix]) et *Treponema pallidum*, Souche SS14 (Université de Washington). Lorsque cela était possible et lorsque les données de concentration étaient disponibles, les virus, bactéries et/ou champignons interférents ont été évalués à des niveaux pertinents sur le plan médical (généralement 1E+05 - 1E+06 cfu/mL pour les bactéries/champignons et 1E+04 - 1E+05 pfu/mL pour les virus).

Le contrôle matrice positive (Positive Matrix Control, PMC) et le contrôle matrice négative (Negative Matrix Control, NMC) sont inclus comme contrôles du test. Le PMC correspond à la matrice négative enrichie avec des souches spécifiques sans aucun agent microbien interférent, tandis que le NMC correspond à la matrice négative sans aucun agent microbien interférent.

Nom du microorganisme	Concentration testée	Résultat
PMC	S.O.	N.I
NMC	S.O.	N.I
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Non disponible	N.I
<i>Atopobium vaginae</i>	4,52E+03 cfu/μL	N.I
<i>Candida albicans</i>	4,18E+03 cfu/μL	N.I
<i>Candida glabrata</i>	2,46E+03 cfu/μL	N.I
<i>Candida parapsilosis</i>	Non disponible	N.I
<i>Candida tropicalis</i>	3,04E+04 cp/μL	N.I
<i>Chlamydia trachomatis</i> Serovar E	3,20E+06 ifu/mL	N.I
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,28E+03 cfu/μL	N.I
1st WHO IS for Epstein-Barr Virus EBV	5,00E+04 IU/mL	N.I
<i>Gardnerella vaginalis</i> 594 [NCTC 10287]	4,40E+05 cfu/mL	N.I

<i>Haemophilus ducreyi</i> Classe I	1,40E+02 cp/μL	N.I
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,20E+03 cfu/μL	N.I
Hépatite A	2,80E+03 TCID50/μL	N.I
<i>Klebsiella oxytoca</i>	Non disponible	N.I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Non disponible	N.I
<i>Listeria innocua</i>	Non disponible	N.I
<i>Listeria ivanovii</i> subsp. londoniensis	Non disponible	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i> (CECT 4031)	2,90E+03 cfu/μL	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i> (CECT 935)	2,70E+03 cfu/μL	N.I
<i>Mycoplasma hominis</i>	4,40E+03 cfu/μL	N.I
<i>Mycoplasma genitalium</i>	3,80E+03 cfu/μL	N.I
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	6,20E+03 cfu/μL	N.I
<i>Neisseria meningitidis</i>	5,70E+04 cfu/μL	N.I
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,90E+04 cfu/μL	N.I
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,60E+04 cfu/μL	N.I
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	9,20E+03 cfu/μL	N.I
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2,00E+04 cfu/μL	N.I
<i>Acinetobacter baumannii</i> 5377 [NCDC KC 755]	8,10E+05 cfu/mL	N.I
<i>Bacteroides fragilis</i>	3,40E+02 cp/μL	N.I
<i>Enterococcus faecalis</i> Souche Type	5,00E+05 cfu/mL	N.I
<i>Enterococcus faecium</i> vanA	3,50E+05 cfu/mL	N.I
Papillomavirus humain 16	1,00E+03 IU/μL	N.I
Papillomavirus humain 18	1,00E+03 IU/μL	N.I
<i>Serratia marcescens</i>	2,30E+05 cfu/mL	N.I
Virus Varicella-Zoster	7,26E+04 cfu/mL	N.I
<i>Citrobacter freundii</i> Souche Type	6,20E+02 cfu/μL	N.I
<i>Escherichia coli</i> Souche Type	5,20E+02 cfu/μL	N.I
<i>Proteus mirabilis</i>	2,55E+01 cfu/μL	N.I
Virus de la variole du singe	1,50E+03 cp/mL	N.I

Tableau 24. Test des agents microbiens interférents. N.I. = aucune interférence, (PMC) = contrôle de matrice positif, (NMC) = contrôle de matrice négatif, (TCID50) : Dose infectieuse médiane (50 %) en culture cellulaire (Tissue Culture Infectious Dose 50 %, (IU) : unités internationales, (cfu) : unités formant colonie (colony-forming units), (cp) : copies, (ifu) : unités infectieuses.

En conclusion, aucune interférence n'a été observée dans la détection de l'acide nucléique cible avec l'un des micro-organismes testés.

Étude des substances interférentes

Une étude des substances interférentes a été réalisée pour tester l'effet d'interférence potentiel des substances endogènes et exogènes sur VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Au total, 22 substances potentiellement interférentes ont été ajoutées à la matrice négative de lésion cutanée naturelle enrichie avec les souches de référence : Virus Herpes Humain 1, Souche KOS (ATCC® VR-1493, Réf. : FR-310 (IRR)), Virus Herpes Simplex Type 2, Souche MS (Réf. : 0810006CF [Zeptomatrix]) et *Treponema pallidum*, Souche SS14 (Université de Washington) ; et évaluées avec six réplicats.

Le contrôle matrice positive et le contrôle matrice négative (Positive Matrix Control) PMC) et (Negative Matrix Control) NMC, respectivement) sont inclus comme contrôles du test. Le PMC correspond à la matrice négative enrichie avec des souches cibles spécifiques sans substance interférente, tandis que le NMC correspond à la matrice négative sans substance interférente ni micro-organismes/matériau de référence ajoutés. Les résultats suivants ont été obtenus :

Nom de la substance	Concentration testée	Résultat
PMC	S.O.	N.I.
NMC	S.O.	N.I.
Acyclovir	6,60E-02 mg/mL	N.I.
Albumine	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Sang total	1,00E+00% (v/v)	N.I.
Leucocytes/monocytes	1,00E+06 cellules/mL	N.I.
Mucine	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Calmiox (hydrocortisone)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Neosayomol (diphénhydramine)	3,87E-02 mg/mL	N.I.
Letibalm (baume à lèvres)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Caséine	7,00E+00 mg/mL	N.I.
Hemoal (benzocaïne)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Durex Frescor	5,00E+01 µl/mL	N.I.
SOIVRE (huile intime hydratante)	5,00E+01 µl/mL	I
	1,25E+01 µl/mL	N.I.
Liade (pommade antibiotique)	7,20E+00 mg/mL	N.I.
Urine féminine	1,00E+01% (v/v)	N.I.
Urine masculine	1,00E+01% (v/v)	N.I.
Fèces	2,20E-01 % (v/v)	N.I.
Liquide séminal	5,00E+00% (v/v)	N.I.
Halibut (pommade)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Vagisil (crème vaginale)	7,50E-01 mg/mL	N.I.
Amidon de maïs	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Talquistina (crème hydratante)	2,64E+00% (v/v)	I
	6,60E-01% (v/v)	I
	3,30E-01% (v/v)	I
	1,70E-01% (v/v)	N.I.
Tioconazole (crème antimycosique)	2,50E+00 mg/mL	N.I.

Tableau 25. Substances potentiellement interférentes. N.I : aucune interférence à signaler / I : interférence.

Différentes substances potentiellement interférentes, endogènes et exogènes, ont été testées avec le VIASURE *HSV-1*, *HSV-2* & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Une interférence a été observée lors du test de SOIVRE Intim Oil à 50 µL/mL et de Talquistina à 2,64 % (v/v). Des dilutions ont été effectuées jusqu'à atteindre la concentration à laquelle ces effets d'interférence n'étaient plus observés : 12,5 µL/mL pour SOIVRE Intim Oil et 0,17 % (v/v) pour Talquistina. Les

résultats obtenus permettent de conclure que, aux concentrations finales testées, aucune interférence des substances évaluées n'est observée.

12.5.2. Réactivité analytique

La réactivité analytique peut être définie comme le pourcentage de souches microbiennes cibles ou d'échantillons de DNA/RNA qui donnent le résultat positif correct. La réactivité analytique a été étudiée *in silico* et par des analyses expérimentales.

Réactivité analytique, analyse *in silico*

La réactivité analytique de VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System a été évaluée en utilisant la base de données de séquences d'acide nucléique publique et disponible NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), ainsi qu'un logiciel d'analyse bio-informatique interne, afin de démontrer que les gènes cibles peuvent être correctement détectés par le dispositif à l'étude. L'analyse *in silico* des amorces et des sondes a été réalisée par alignement avec un total de 4 941 séquences analysées pour *T. pallidum* (séquences téléchargées à partir de la base de données après suppression des doublons), 9 779 pour le HSV-1 et 8 689 pour le HSV-2. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

<i>Treponema pallidum</i>					
Gène	Séquences alignées : 607				
	Sans mésappariement	Avec mésappariements	Séquences avec détection confirmée	Séquences sans détection	Séquences à détection inconnue
<i>16S rRNA</i>	99,84 %	0,16 %	99,84 %	0 %	0,16 %
Alphaherpesvirus humain 1					
Gène	Séquences alignées : 513				
	Sans mésappariement	Avec mésappariements	Séquences avec détection confirmée	Séquences sans détection	Séquences à détection inconnue
<i>UL1</i>	87,33 %	12,67 %	97,66 %	0 %	2,34 %
Alphaherpesvirus humain 2					
Gène	Séquences alignées : 549				
	Sans mésappariement	Avec mésappariements	Séquences avec détection confirmée	Séquences sans détection	Séquences à détection inconnue
<i>US4</i>	93,44 %	6,56 %	93,44 %	0 %	6,56 %

Tableau 26. Test *in silico* de la réactivité analytique. « Séquences alignées » = nombre de séquences alignées sans ou avec mésappariements par rapport au total des séquences analysées, « Séquences avec détection confirmée » = séquences sans mésappariements ou analysées par voie humide dont la détection est garantie, « Séquences sans détection » = séquences préalablement analysées *in silico* dont la détection expérimentale ne peut être garantie en raison de preuves expérimentales négatives, « Séquences à détection inconnue » = séquences préalablement analysées *in silico* dont la détection expérimentale ne peut être garantie faute de preuves expérimentales.

En résumé, l'analyse de l'inclusivité a montré une détection correcte des gènes *16S rRNA*, *UL1* et *US4* de *T. pallidum*, HSV-1 et HSV-2, respectivement, avec le VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Réactivité analytique, analyse expérimentale

La réactivité analytique du VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System pour HSV-1 a été évaluée par rapport au DNA de Virus Herpes Humain 1, Souche HF (code ATCC VR-260), Virus Herpes Humain 1, Souche MacIntyre (code ATCC VR-539), Virus Herpes Humain 1, Souche F (code ATCC VR-733) et 1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-1 (HSV-1) (NIBSC 16/368), montrant des résultats positifs.

La réactivité analytique du VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System pour HSV-2 a été évaluée par rapport au DNA de Virus Herpes Humain 2, Souche G (code ATCC VR-3393), Virus Herpes Humain 2, Souche ATCC-2011-2 (code ATCC VR-1779), et 1st WHO IS for Herpes Simplex Virus type-2 (HSV-2) (NIBSC 17/122), montrant des résultats positifs.

La réactivité analytique du VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System pour *T. pallidum* a été évaluée par rapport au DNA de *Treponema pallidum*, Souche Nichols (Université de Washington) et *Treponema pallidum* DNA Control (Viracell MBC109), montrant des résultats positifs.

12.6. Traçabilité métrologique

Ce test n'est pas conçu à des fins de mesure.

13. Caractéristiques des performances cliniques

Les performances cliniques du VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System ont été testées dans des échantillons d'écouvillons prélevés sur des lésions cutanées anogénitales et orales avec le Copan eSwab®. Pour le prélèvement, l'écouvillon stérile (FLOQSwab) a été placé dans le flacon fourni contenant 1 mL de Copan's Liquid Amies Elution Swab. Les résultats étaient les suivants :

	Site	Type d'échantillon	Flux de travail	Cible
1	Certest Biotec S.L. (Saragosse, Espagne) En collaboration avec l' Hospital Universitario Miguel Servet (Saragosse, Espagne), à partir d'échantillons provenant du Biobanque du Système de Santé d'Aragon (BSSA).	Écouvillon de lésions cutanées anogénitales et orales (Étude rétrospective)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				<i>T. pallidum</i>
2	Certest Biotec S.L. (Saragosse, Espagne) en utilisant des échantillons provenant de Cerba Xpert	Écouvillon de lésions cutanées anogénitales et orales (Étude rétrospective)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	HSV-1
				HSV-2
				<i>T. pallidum</i>

Tableau 27. Site, type d'échantillon, flux de travail et cible.

Le calcul des éléments suivant a été réalisé : vrais positifs et vrais négatifs, faux positifs et faux négatifs, sensibilité, spécificité (PPV), valeurs prédictives positives (NPV), valeurs prédictives négatives (LR) et rapports de vraisemblance pour VIASURE *HSV-1, HSV-2 & Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System. Les résultats et l'analyse des différentes études ont été compilés en une seule valeur de référence en raison du fait que les deux études utilisaient la même méthode de référence, le même type d'échantillons et les mêmes critères d'inclusion/exclusion. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant.

Site	Test comparateur	Cible	TP	TN	FP	FN	Sensibilité	Spécificité	PPV	NPV	LR+	LR-
1+2	Allplex™ Genital Ulcer Assay (Seegene)	HSV-1	50	96	0	1	0,98 (0,90–1)	1 (0,96–1)	1 (0,93–1)	0,99 (0,94–0,99)	188,4 (11,86–2992)	0,029 (0,006–0,14)
		HSV-2	49	97	0	1	0,98 (0,89–0,99)	1 (0,96–1)	1 (0,93–1)	0,99 (0,94–0,99)	190,2 (11,98–3021)	0,03 (0,006–0,14)
		<i>T. pallidum</i>	40	106	0	1	0,98 (0,87–0,99)	1 (0,97–1)	1 (0,91–1)	0,99 (0,96–0,99)	206,36 (12,98–3280)	0,036 (0,007–0,173)













Tableau 28. Vrais positifs (TP) et vrais négatifs (TN), faux positifs (FP) et faux négatifs (FN), sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives (PPV), valeurs prédictives négatives (NPV) et rapports de vraisemblance (LR) pour VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

En conclusion, les résultats montrent une concordance élevée pour la détection du HSV-1, du HSV-2 et de *T. pallidum* à l'aide du test VIASURE HSV-1, HSV-2 & *Treponema pallidum* Assay for BD MAX™ System.

Bibliographie

- CDC. (2023). *Enfermedades de transmisión sexual (ETS)*. <https://www.cdc.gov/std/spanish/sifilis/stdfact-syphilis-s.htm>
- Cole, S. (2020). Herpes Simplex Virus: Epidemiology, Diagnosis, and Treatment. *Nursing Clinics of North America*, 55(3), 337–345. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2020.05.004>
- Forrestel, A. K., Kovarik, C. L., & Katz, K. A. (2020). Sexually acquired syphilis: Laboratory diagnosis, management, and prevention. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 82(1), 17–28. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2019.02.074>
- Mercuri, S. R., Moliterni, E., Cerullo, A., Di Nicola, M. R., Rizzo, N., Bianchi, V. G., & Paolino, G. (2022). Syphilis: a mini review of the history, epidemiology and focus on microbiota. *New Microbiologica*, 45(1), 28–34.
- Minaya, M. A., Jensen, T. L., Goll, J. B., Korom, M., Datla, S. H., Belshe, R. B., & Morrison, L. A. (2017). Molecular Evolution of Herpes Simplex Virus 2 Complete Genomes: Comparison between Primary and Recurrent Infections GENETIC DIVERSITY AND EVOLUTION crossm. *American Society for Microbiology*. <https://doi.org/10.1128/JVI>
- Peeling, R. W., Mabey, D., Chen, X. S., & Garcia, P. J. (2023). Syphilis. *The Lancet*, 402, 336–346. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)02348-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)02348-0)
- Radolf, J. D., Deka, R. K., Anand, A., Šmajš, D., Norgard, M. V., & Yang, X. F. (2016). Treponema pallidum, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen HHS Public Access. *Nat Rev Microbiol*, 14(12), 744–759. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.141>
- Tudor, M. E., Al Aboud, A. M., & Gossman, W. (2022, July 23). *Syphilis*. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL); StatPearls Publishing. <https://doi.org/10.1016/j.med.2022.04.001>
- WHO. (2023). *Herpes Simplex Virus*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>
- Zhu, S., & Viejo-Borbolla, A. (2021). Pathogenesis and virulence of herpes simplex virus. *Virulence*, 12(1), 2670–2702. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.1982373>

Symboles pour les composants IVD et réactifs

 Dispositif de diagnostic <i>in vitro</i>	 Craint l'humidité	 Utiliser avant	 Fabricant	 Code de lot
 Consulter la notice d'utilisation	 Limites de température	 Contenance suffisante pour <n> test(s)	 Identification unique du dispositif	 Référence catalogue
 Marquage CE	 Tenir éloigné de la lumière du soleil			

Marques commerciales

BD MAX™ est une marque déposée de Becton, Dickinson and Company.

Droits de modification réservés. Tous droits réservés. © Certest Biotec, S.L.

Toutes les autres marques commerciales susceptibles d'apparaître dans cette notice sont la propriété de leurs détenteurs respectifs.



Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, N° 1, 50840, San Mateo de Gállego, Saragosse (Espagne)

Tél. (+34) 976 520 354 | viasure@certest.es | www.certest.es

Informations sur le promoteur en Australie :

Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.
Macquarie Park NSW 2113, Australie

Informations sur le promoteur en Nouvelle-Zélande :

Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.
Mt. Wellington Auckland 1060, Nouvelle-Zélande

Contrôle des modifications		
Version n°	Modifications	Date
00	Version originale Cette version est une traduction du document original en anglais : IUo-444222en0725.00.	27/07/2025

Tableau A 2. Tableau de contrôle des modifications.

Révision : 00

VIASURE

by **certest**



 **Certest Biotec, S.L.**
Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, N°1 50840,
San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)

 **(+34) 976 520 354**

 **viasure@certest.es**

 **www.certest.es**

certest

F-566 rev.03

Modification rights reserved. All rights reserved. © Certest Biotec, S.L.
The products, services and data set out in this document may suffer changes
and/or variations on the texts and pictures shown.