

Real Time PCR Detection Kit

Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance
Assay for BD MAX™ System
Notice d'utilisation

CE IVD
2797

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

PRODUIT	RÉFÉRENCE
VIASURE <i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System	444224

Tableau A1. Référence du produit à utiliser avec BD MAX™ System.

EN To download IFUs in other languages, please visit certest.es/viasure/labeling. Once there, please follow the instructions to access the language required. If you need additional information, please contact: viasure@certest.es.

BG За да изтеглите инструкциите за употреба (IFU) 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 návody k použití (IFU) 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 brugsanvisninger på andre sprog, kan du gå til certest.es/viasure/labeling. Når du er der, bedes 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 die 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 λήψη των Οδηγίες χρήσης (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 Instrucciones de Uso (IFU) 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.

FR Pour télécharger la notice d'utilisation (IFU) dans d'autres langues, consultez certest.es/viasure/labeling. Une fois sur le site, suivez les instructions pour accéder à la langue de votre choix. 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 A használati utasítások (IFU-k) 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 le istruzioni per l'uso (IFU) in altre lingue, vai su certest.es/viasure/labeling. Una volta che sei lì, segui le indicazioni per accedere alla lingua di cui hai bisogno. Se hai bisogno di ulteriori informazioni, contatta: viasure@certest.es.

LT Norėdami atsisiųsti naudojimo instrukciją kitomis kalbomis, apsilankykite adresu certest.es/viasure/labeling. Atidare šį tinklalapį vykdykite rodomas instrukcijas, kol rasite reikiamą kalbą. Jei reikia daugiau informacijos, kreipkitės adresu: viasure@certest.es.

LV Lai lejupielādētu lietošanas pamācību citās valodās, lūdzu, apmeklējiet vietni certest.es/viasure/labeling. Pēc vietnes lapas atvēršanas izpildiet norādījumus, lai piekļūtu vajadzīgajai valodai. Ja nepieciešama papildu informācija, lūdzu, sazinieties ar: viasure@certest.es.

NB Hvis du vil laste ned en bruksanvisning (IFU) på et annet språk, kan du gå inn på certest.es/viasure/labeling. Følg instruksjonene på nettsiden for å få tilgang til det språket du ønsker.. Hvis du trenger ytterligere informasjon, kan du sende en e-post til: viasure@certest.es.

PT Para transferir instruções de utilização (IFU) noutros idiomas europeus, aceda a certest.es/viasure/labeling. Uma vez lá, siga as instruções para acessar ao idioma que pretende. Se necessitar de informações adicionais, entre em contacto conosco através do: viasure@certest.es.

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

SV För att ladda ner bruksanvisningen på andra språk, gå in på certest.es/viasure/labeling och följ instruktionerna. Om du behöver ytterligare information, kontakta: viasure@certest.es.

SK Ak si chcete stiahnuť návody na použitie v iných jazykoch, prejdite na stránku certest.es/viasure/labeling. Po otvorení stránky postupujte podľa pokynov na prístup k požadovanému jazyku. Ak potrebujete ďalšie informácie, obráťte sa na: viasure@certest.es.

FI Lataa suomenkielinen turvallisuusopas osoitteesta certest.es/viasure/labeling. Seuraa annettuja ohjeita. Mikäli tarvitset lisätietoja, ota yhteyttä: viasure@certest.es.

Veuillez 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	8
4.	Réactifs fournis	9
5.	Réactifs et équipement à fournir par l'utilisateur	9
6.	Conditions de transport, de stockage et d'utilisation	10
7.	Précautions pour les utilisateurs.....	11
8.	Procédure de test.....	13
8.1.	Prélèvement, transport et stockage des échantillons.....	13
8.2.	Préparation de l'échantillon et extraction du DNA	14
8.3.	Protocole PCR.....	14
8.3.1.	Création d'un programme de test PCR pour VIASURE <i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System	14
8.3.2.	Préparation du portoir BD MAX™	19
8.3.3.	Préparation de l'instrument BD MAX™	20
8.3.4.	Rapport des résultats BD MAX™	21
9.	Interprétation des résultats	21
10.	Limitations du test.....	26
11.	Contrôle qualité	28
12.	Caractéristiques des performances analytiques	28
12.1.	Linéarité analytique	28
12.2.	Sensibilité analytique. Limite de détection (LoD).....	30
12.3.	Plage de mesure	31
12.4.	Exactitude.....	32
12.4.1.	Justesse	32
12.4.2.	Fidélité.....	33
12.5.	Spécificité et réactivité analytiques	40
12.5.1.	Spécificité analytique	40

12.5.2. Réactivité analytique.....	47
12.6. Traçabilité métrologique	48
13. Caractéristiques des performances cliniques.....	48
14. Résumé des caractéristiques de sécurité et des performances	49
Bibliographie	50
Symboles pour les composants IVD et réactifs	50
Marques commerciales	50

FRANÇAIS

1. Destination

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System est un test qPCR automatisé conçu pour la détection qualitative du DNA de *Mycoplasma genitalium* et de mutations ponctuelles spécifiques (provoquées par des substitutions de bases dans *23S rRNA*) impliquées dans la résistance aux macrolides, à partir d'écouvillons vaginaux ainsi que d'échantillons d'urine masculins et féminins provenant de patients dont le professionnel de santé soupçonne une infection à *M. genitalium*. Ce test est destiné à faciliter le diagnostic de l'infection à *M. genitalium* et à la détection d'une résistance potentielle aux macrolides en combinaison avec les signes et symptômes cliniques du patient et/ou les facteurs de risque épidémiologiques. Les résultats positifs indiquent la présence de l'acide nucléique (AN) cible, mais n'excluent pas la présence d'AN 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 *M. genitalium* ainsi que pour les mutations du gène *23S rRNA* associées à la résistance aux macrolides.

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 infections sexuellement transmissibles (IST) sont un problème de santé publique majeur dans le monde entier, affectant la qualité de vie et entraînant une morbidité et une mortalité importantes.

Mycoplasma genitalium (MG) est une cause fréquente d'urétrite non gonococcique (UNG) et d'urétrite non chlamydienne chez l'homme et de cervicite chez la femme. Il est associé à la maladie inflammatoire pelvienne, à l'infertilité et à l'accouchement prématuré (Baumann et al., 2018; Jensen et al., 2022; van der Schalk et al., 2020). MG est un organisme en forme de fiole, doté d'une organelle terminale légèrement incurvée, capable de provoquer une inflammation du tractus urogénital par adhésion aux cellules épithéliales de l'hôte et déclenchant des signaux inflammatoires aigus via des capteurs immunitaires innés fortement exprimés (Gnanadurai & Fifer, 2020). Ce micro-organisme est un organisme à croissance lente connu pour être le plus petit procaryote capable de répllication indépendante, qui est apparu au cours des dernières décennies

comme un agent pathogène sexuellement transmissible en raison de sa capacité à coloniser le tractus reproducteur des hommes et des femmes (Gnanadurai & Fifer, 2020; Jensen et al., 2022). L'infection par MG pendant la grossesse a été associée à des accouchements prématurés et pourrait jouer un rôle dans les pertes de grossesse précoces et les infections néonatales (Heavey, 2017). Il peut coexister avec *Chlamydia trachomatis* et d'autres infections sexuellement transmissibles, ce qui rend difficile la détermination de ses effets indépendants (Heavey, 2017).

Les macrolides sont une classe de médicaments utilisés dans la prise en charge et le traitement de diverses infections bactériennes, telles que la pneumonie, la sinusite, la pharyngite, l'amygdalite, les infections cutanées sans complications et l'otite moyenne ou l'infection à *Helicobacter pylori*, mais ils sont également couramment utilisés pour traiter les infections sexuellement transmissibles telles que les infections gonococciques et à *Chlamydia* (Patel & Hashmi, 2023). Le mécanisme d'action consiste à se lier à la sous-unité ribosomale 50S bactérienne (à proximité du site peptidyl transférase [région V]) ou aux résidus A2058 et A2059 (numérotation *Escherichia coli*) de *23S rRNA*, provoquant l'arrêt de la synthèse des protéines bactériennes (van der Schalk et al., 2020).

Le problème croissant de la résistance aux macrolides est une préoccupation majeure, avec des taux de résistance mondiaux variant de 30 % à 100 % (Gnanadurai & Fifer, 2020). Les bactéries développent principalement une résistance aux macrolides par deux mécanismes : les polymorphismes mononucléotidiques (SNPs) et la méthylation du rRNA. Cependant, puisque MG ne possède pas les enzymes nécessaires à la méthylation, il ne peut développer une résistance que par modification de la cible par des SNPs (van der Schalk et al., 2020). La résistance résulte souvent d'une mutation de base unique en position A2058 ou A2059 (sur la base de la numérotation *Escherichia coli*) dans le gène *23S rRNA*, avec un impact minimal sur l'aptitude bactérienne, permettant une transmission continue (Gnanadurai & Fifer, 2020). L'azithromycine est le macrolide le plus couramment utilisé pour traiter les infections à MG, bien que la josamycine et la pristinamycine soient également recommandées (Gnanadurai & Fifer, 2020; Jensen et al., 2022; van der Schalk et al., 2020).

La culture de MG est difficile, car sa croissance nécessite plusieurs semaines, voire plusieurs mois, ce qui rend les tests de sensibilité standard peu pratiques. Bien que les tests de sensibilité aux antibiotiques réalisés à l'aide de souches de MG cultivées sur des cellules Vero aient donné des résultats similaires à ceux obtenus avec les méthodes de dilution en bouillon traditionnelles, cette approche n'est pas réalisable pour le diagnostic primaire ni pour la plupart des laboratoires de référence (Gnanadurai & Fifer, 2020).

En raison de l'absence de paroi cellulaire, MG n'est pas visible sur les sécrétions génitales colorées au Gram. En outre, les tests sérologiques basés sur les anticorps ne sont pas fiables en raison de la réactivité croisée avec d'autres mycoplasmes, notamment *Mycoplasma pneumoniae* (Gnanadurai & Fifer, 2020). Cependant, les tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN), tels que la réaction en chaîne par polymérase et l'amplification médiée par transcription, permettent une détection précise de MG (Baumann et al., 2018;

Heavey, 2017; Jensen et al., 2022). Les TAAN peuvent être réalisés sur plusieurs types d'échantillons génitaux, mais les écouvillons vaginaux chez les femmes et les échantillons de première urine du matin chez les hommes semblent fournir les meilleurs résultats lors du dépistage de MG (Heavey, 2017). En raison du taux élevé de résistance antimicrobiennes, il est recommandé d'effectuer simultanément des tests de résistance génotypique pour orienter le traitement approprié (Gnanadurai & Fifer, 2020).

3. Principe de la procédure

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System est conçu pour la détection qualitative et la différenciation simultanées du DNA de *Mycoplasma genitalium* et des marqueurs génétiques spécifiques associés à la résistance et à la sensibilité aux macrolides dans des écouvillons vaginaux et des échantillons d'urine d'hommes et de femmes. Après isolement du DNA, l'identification de *M. genitalium* et des marqueurs génétiques de résistance et de sensibilité aux macrolides est réalisée par amplification d'une région spécifique du gène de l'*adhésine MgPa* de *M. genitalium* et du gène *23S rRNA*, dont les mutations ponctuelles spécifiques sont impliquées dans la résistance et la sensibilité aux macrolides, au moyen d'amorces spécifiques et de sondes marquées par fluorescence. Le test est destiné aux personnes présentant des signes ou une suspicion d'IST, aux partenaires sexuels de personnes ayant reçu un diagnostic d'infection à *M. genitalium* et aux populations à haut risque telles que les hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes (HSH), les personnes atteintes du VIH et les patients fréquentant les cliniques de santé sexuelle.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System est basé sur l'activité exonucléase 5' du 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.

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance 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 de ménage (housekeeping) humains 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.

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

Cible	Canal	Gène
Résistance aux macrolides	475/520 (FAM)	<i>23S rRNA</i>
Sensibilité aux macrolides	530/565 (HEX)	<i>23S rRNA</i>
<i>Mycoplasma genitalium</i>	585/630 (ROX)	<i>Adhésine MgPa</i>
Contrôle interne endogène (EIC)	680/715 (Cy5.5)	<i>RNAse P</i>

Tableau 1. Cible, canal et gènes.

4. Réactifs fournis

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System contient le matériel et les réactifs décrits dans le Tableau 2 :

Réactif/matériel	Description	Plage de concentration	Code	Quantité
<i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance reaction tube	Lyoprotecteurs et stabilisateurs	±6 g/100 mL*	Opercule 1F	2 poches de 12 tubes transparents
	Nucléotide triphosphate (dNTPs)	±1 mM*		
	Amorces et sondes	0,2-1 nMol/µL*		
	Enzymes	10-100 U/rxn*		
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 avec VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System, Réf. n° 444224.

* 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 le matériel requis pour l'utilisation, mais non inclus dans VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance 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.

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 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 associée.

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 sachets en aluminium contenant les tubes de réaction. 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 <i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance 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.
<i>Mycoplasma genitalium</i> with Macrolide Resistance reaction tube (opercule 1F)		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 de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance 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 de BD MAX™ System avant toute utilisation de VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance 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 VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System, le kit d'extraction BD MAX™ ExK™ TNA-3 et tous les réactifs supplémentaires requis pour le test et 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 et 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 boire, 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. Évitez la contamination et le contact avec la peau, les yeux et les vêtements.
- 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), VIASURE Assays for BD MAX™ System ne nécessitent pas de fiches de données de sécurité (Safety Data Sheets) en raison de sa classification comme non dangereux pour la santé et l'environnement, car il ne contient 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

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System a été testé avec des échantillons vaginaux prélevés par écouvillonnage par un clinicien à l'aide de Copan eSwab® (Copan's Liquid Amies Elution Swab) et des échantillons de première urine du matin prélevés par des hommes et des femmes dans un récipient stérile sans conservateur. 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 soumis à des tests moléculaires doivent être conservés dans des conditions contrôlées afin que les acides nucléiques ne se dégradent pas pendant le stockage. Évitez les cycles de congélation-décongélation répétés afin de ne pas dégrader l'échantillon et les acides nucléiques.

Les échantillons cliniques doivent être prélevés, transportés et stockés conformément aux directives spécifiques du laboratoire et/ou au manuel détaillant sa politique.

Une étude interne sur la stabilité des échantillons a été réalisée avec VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System en utilisant une matrice vaginale négative prélevée dans Copan eSwab®, une matrice d'urine féminine et masculine enrichie avec la souche de référence sensible aux macrolides (Amplirun® Total Macrolide Resistant MGE Control) à une concentration de 3xLoD. La stabilité a été analysée au moyen de deux tests différents : la stabilité primaire (25°C : 4 heures et 2 jours ; 4°C : 1 et 2 jours ; -20°C : 12 mois), et la stabilité imbriquée. Pour le test de stabilité imbriquée, les échantillons incubés à 25°C pendant 4 heures et les échantillons incubés à 4°C pendant 1 jour ont été analysés 3 jours après l'ajout de Sample Buffer Tube (SBT) ; les échantillons incubés à 25°C pendant 2 jours et les échantillons incubés à 4°C pendant 2 jours ont été analysés 7 jours après l'ajout de SBT. Par ailleurs, les échantillons ont été analysés après avoir subi cinq cycles de congélation (à -80°C) et de décongélation (à 25°C). Les résultats ont montré une bonne performance des échantillons stockés dans toutes les conditions testées, répondant aux critères d'acceptation initialement définis.

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. Pipetez 400 µL de l'écouvillon vaginal ou 750 µL de l'échantillon d'urine 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.

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 *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System

Remarque : Si vous avez déjà créé le test pour VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance 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 MGM.

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))
<i>Lysis Heat Time</i> (Durée de chauffe pour la lyse)	15 (min)
<i>Lysis Temperature</i> (Température de la lyse)	55 (°C)
<i>Sample Tip Height</i> (Hauteur de pointe de l'échantillon)	1 600 (steps)
<i>Sample Volume</i> (Volume de l'échantillon)	500 (µL) (protocole pour les échantillons d'urine) 425 (µL) (protocole pour les échantillons vaginaux)
<i>Wash Volume</i> (Volume de lavage)	500 (µL)
<i>Neutralization Volume</i> (Volume de neutralisation)	n.a.
<i>DNase Heat Time</i> (Durée de chauffe pour la DNase)	n.a.

Tableau 4. Paramètres de l'extraction de l'échantillon réalisée avec BD MAX™ ExK™ TNA-3. n.a. = non applicable.

- 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) : 1F (concernant *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* 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 ».

<i>Channel</i> (Canal)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>PCR Gain</i> (Gain PCR)	<i>Threshold</i> (Seuil)	<i>Ct Min</i> (Ct min)	<i>Ct Max</i> (Ct max)
475/520 (FAM)	Res	40	200		40
530/565 (HEX)	Sen	40	200	0	40
585/630 (ROX)	Mg	40	200		40
630/665 (Cy5)	-	-	-	-	-
680/715 (Cy5.5)	EIC	60	200	0	35/40*

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.

* En raison de la variabilité du nombre de cellules humaines contenues dans les échantillons d'urine, la valeur seuil de la cible du contrôle interne endogène (EIC) est fixée à 35 pour les échantillons vaginaux prélevés par écouvillonnage et à 40 pour les échantillons d'urine féminine et masculine afin de garantir un prélèvement d'échantillon approprié.

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

		<i>False Receiving Channel (Canal de fausse réception)</i>					
		<i>Channel (Canal)</i>	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
<i>Excitation Channel (Canal d'excitation)</i>	475/520	-	3,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	530/565	3,0	-	0,0	0,0	0,0	0,0
	585/630	0,0	0,0	-	-	0,0	0,0
	630/665	0,0	0,0	0,0	0,0	-	-
	680/715	0,0	0,0	0,0	0,0	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.

<i>Step (Étapes)</i>	<i>Step name (Nom de l'étape)</i>	<i>Profile Type (Type de profil)</i>	<i>Cycles (Cycles)</i>	<i>Time (s) (Temps (s))</i>	<i>Temperature (Température)</i>	<i>Detect (Détection)</i>
Initial denaturation (Dénaturation initiale)	IN-denaturation	<i>Hold</i>	1	120	95°C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Dénaturation et appariement/extension (collecte de données))	Annealing/Extension	<i>2-Temperature</i>	45	10	95°C	-
				58	60°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 Res (utilisez jusqu'à sept caractères alphanumériques). Répétez les étapes 12 à 15 pour chaque cible (c'est-à-dire Sen ou Mg) 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).

<i>Wavelength</i> (Longueur d'onde)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyse)
475/520	Res	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tableau 8. Sélection des canaux PCR dans l'onglet « Result logic » (Logique des résultats) pour la cible Res (résistance aux macrolides).

<i>Wavelength</i> (Longueur d'onde)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyse)
530/565	Sen	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tableau 9. Sélection des canaux PCR dans l'onglet « Result logic » (Logique des résultats) pour la cible Sen (sensibilité aux macrolides).

<i>Wavelength</i> (Longueur d'onde)	<i>Alias</i> (Alias)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyse)
585/630	Mg	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tableau 10. Sélection des canaux PCR dans l'onglet « Result logic » (Logique des résultats) pour la cible Mg (*Mycoplasma genitalium*).

- 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 11–13 pour les échantillons vaginaux et aux Tableaux 14–16 pour les échantillons d'urine.

Échantillons vaginaux prélevés par écouvillonnage

<i>Result</i> (Résultat)	Res (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NEG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 11. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible Res (résistance aux macrolides) dans le protocole pour les échantillons vaginaux. Les résultats disponibles sont POS (positif), NEG (négatif) et UNR (non résolu).

<i>Result</i> (Résultat)	Sen (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NEG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 12. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible Sen (sensibilité aux macrolides) dans le protocole pour les échantillons vaginaux. Les résultats disponibles sont POS (positif), NEG (négatif) et UNR (non résolu).

<i>Result</i> (Résultat)	Mg (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NEG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 13. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible Mg (*Mycoplasma genitalium*) dans le protocole pour les échantillons vaginaux. Les résultats disponibles sont POS (positif), NEG (négatif) et UNR (non résolu).

Échantillons d'urine

<i>Result</i> (Résultat)	Res (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
POS	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NEG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 14. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible Res (résistance aux macrolides) dans le protocole pour les échantillons d'urine. Les résultats disponibles sont POS (positif), NEG (négatif) et UNR (non résolu).

<i>Result</i> (Résultat)	Sen (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
POS	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NEG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 15. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible Sen (sensibilité aux macrolides) dans le protocole pour les échantillons d'urine. Les résultats disponibles sont POS (positif), NEG (négatif) et UNR (non résolu).

<i>Result</i> (Résultat)	Mg (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
POS	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NEG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 16. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible Mg (*Mycoplasma genitalium*) dans le protocole pour les échantillons d'urine. Les résultats disponibles sont POS (positif), NEG (négatif) et UNR (non résolu).

Remarque : En fonction du Ct max défini précédemment (Tableau 5) :

- i. Le type de résultat pour les canaux Res (475/520), Sen (530/565) ou Mg (585/630) est considéré comme « Valid » (Valide) lorsque la valeur Ct obtenue est ≤ 40 ; et « Invalid » (Non valide) lorsque la valeur Ct obtenue est > 40 .
- ii. Le type de résultat pour le canal EIC (680/715) est considéré comme « Valid » (Valide) lorsque la valeur Ct obtenue est ≤ 35 pour les échantillons vaginaux prélevés par écouvillonnage, et ≤ 40 pour les échantillons d'urine ; et « Invalid » (Non valide) lorsque la valeur Ct obtenue est > 35 et > 40 , respectivement.

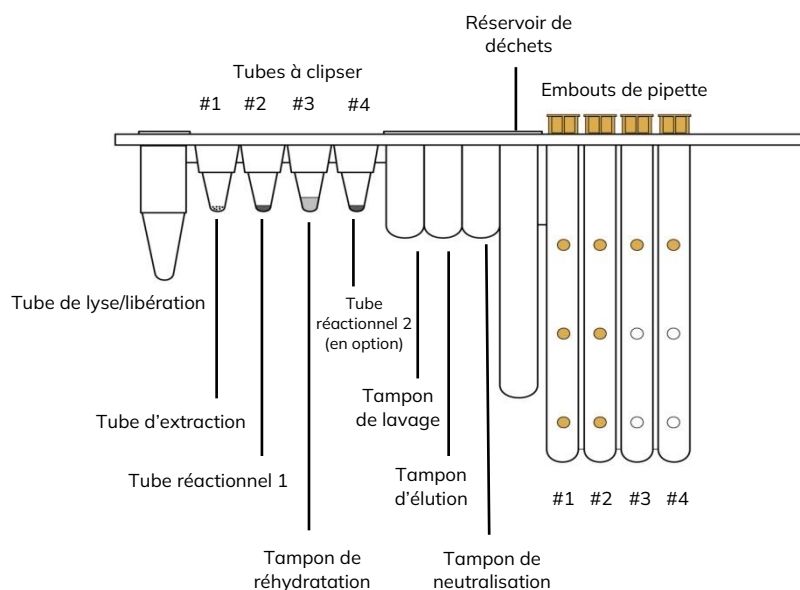
* Bien que la valeur seuil pour la cible EIC dans les échantillons d'urine soit fixée à 40, il est possible de ne pas observer la courbe d'amplification dans l'EIC en cas de signal positif pour les cibles Res ou Sen et Mg. Dans ce cas, la logique de résultat est POS (positif). Voir la Section 9. Interprétation des résultats.

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 *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* reaction tubes (opercule 1F) 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.
 - b. Afin de réaliser un transfert optimal, veuillez vous assurer que le liquide 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 tampon se trouve entièrement au fond du tube.

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



8.3.3. Préparation de l'instrument BD MAX™

- 1) Sélectionnez l'onglet « Worklist » (Liste de travail) sur l'écran « Run » (Exécuter) du logiciel BD MAX™ System (version 4.50A ou supérieure).
- 2) Dans le menu déroulant « Test » (Test), sélectionnez le test souhaité, par exemple VIASURE MGM (s'il n'est pas déjà créé, voir la section 8.3.1).
- 3) Dans le menu déroulant « Kit Lot Number » (Code de lot du kit), sélectionnez le code de lot correspondant au kit (il se trouve à l'extérieure de la boîte du kit d'extraction utilisé) ; cela est facultatif.

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

- 4) Saisissez le numéro d'identification du Sample Buffer Tube (tube de tampon d'échantillon) dans le champ « Sample Tube » (tube d'échantillon), soit en scannant le code-barres, soit par saisie manuelle.
- 5) Renseignez le champ « Patient ID » (ID du patient) et/ou « Accession » (Accession) et cliquez sur Tab (Onglet) ou la touche Enter (Entrée). Poursuivez ainsi jusqu'à ce que tous les codes-barres des Sample Buffer Tubes (tube de tampon d'échantillon) soient saisis. Assurez-vous que le Specimen/Patient ID (identifiant de l'échantillon/du patient) et les Sample Buffer Tubes (tube de tampon d'échantillon) sont correctement appariés.
- 6) Placez le Sample Buffer Tube préparé dans le(s) portoir(s) du BD MAX™ Rack(s).
- 7) Chargez le(s) portoir(s) dans le BD MAX™ System (le portoir A est positionné du côté gauche de l'instrument et le portoir B du côté droit).
- 8) Chargez le nombre nécessaire de cartouche(s) PCR BD MAX™ Cartridge(s) dans le BD MAX™ System.

- 9) Fermez la porte du BD MAX™ System.
- 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 de résultat définie, en suivant les directives d'interprétation énoncées dans les Tableaux 17–18.

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. Veuillez noter que, selon la logique de résultat définie, il est possible de ne pas observer la courbe d'amplification dans l'EIC dans les échantillons d'urine en cas de signal positif pour les cibles Mg et Res ou Sen. Lisez attentivement l'interprétation pour chaque échantillon d'urine prélevé (Tableau 18).

Il convient de lire et d'analyser les résultats à l'aide des tableaux suivants :

Interprétation des résultats pour les échantillons vaginaux prélevés par écouvillonnage

Résistance aux macrolides (nom de la cible : Res)	Sensibilité aux macrolides (nom de la cible : Sen)	<i>M. genitalium</i> (nom de la cible : Mg)	Interprétation pour chaque échantillon de patient
NEG	POS	POS	DNA de sensibilité aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> détectés, DNA de résistance aux macrolides non détecté
POS	NEG	POS	DNA de résistance aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> détectés, DNA de sensibilité aux macrolides non détecté
POS	POS	POS	DNA de résistance aux macrolides, de sensibilité aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> détectés RÉSULTAT NON CONCLUANT¹
POS	POS	NEG	DNA de résistance aux macrolides et de sensibilité aux macrolides détectés, DNA de <i>M. genitalium</i> non détecté. RÉSULTAT NON CONCLUANT¹
POS	NEG	NEG	DNA de résistance aux macrolides détecté, DNA de sensibilité aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> non détectés. RÉSULTAT NON CONCLUANT¹
NEG	POS	NEG	DNA de sensibilité aux macrolides détecté, DNA de résistance aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> non détectés. RÉSULTAT NON CONCLUANT¹
NEG	NEG	POS	DNA de <i>M. genitalium</i> détecté, DNA de résistance aux macrolides et de sensibilité aux macrolides non détectés. RÉSULTAT NON CONCLUANT^{1,2}
NEG	NEG	NEG	DNA de résistance aux macrolides, de sensibilité aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> non détectés
UNR	UNR	UNR	Résultat non résolu (UNR) obtenu en présence d'inhibiteurs de la réaction PCR, échantillons en dessous de la limite de détection ou en cas de problème d'ordre général (non signalé par un code d'erreur) survenu lors du traitement de l'échantillon ou des étapes d'amplification ³
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. ⁴

Résistance aux macrolides (nom de la cible : Res)	Sensibilité aux macrolides (nom de la cible : Sen)	<i>M. genitalium</i> (nom de la cible : Mg)	Interprétation pour chaque échantillon de patient
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. ⁴

Tableau 17. Interprétation des échantillons vaginaux prélevés par écouvillonnage.

1 Test à répéter. Il est recommandé de répéter le test à partir du même Sample Buffer Tube (SBT) ou de l'échantillon primaire en préparant un nouveau SBT. Si le résultat reste non concluant, obtenez un nouvel échantillon (le plus concentré possible) et refaites le test.

REMARQUE : Les échantillons vaginaux prélevés par écouvillonnage peuvent être conservés sans transfert dans le SBT pendant 2 jours maximum s'ils sont stockés à 25°C ou 4°C. 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 noter que les échantillons vaginaux prélevés par écouvillonnage peuvent être conservés dans le SBT pendant 7 jours maximum à 25°C ou 4°C (s'ils ont été stockés auparavant à 25°C ou 4°C pendant 2 jours maximum).

2 Le kit détecte les mutations suivantes associées à la résistance aux macrolides : gène *23S rRNA* (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). En cas de présence d'une autre mutation, le kit n'est pas validé pour sa détection. Par conséquent, l'amplification sera observée dans le canal ROX (détection de *M. genitalium*) et non dans les canaux FAM et HEX (détection de la résistance aux macrolides et de la sensibilité aux macrolides, respectivement).

3 Le contrôle interne endogène (EIC) doit présenter un signal d'amplification avec une valeur Ct ≤ 35 pour être pris en compte. En l'absence de signal pour EIC ou la valeur Ct > 35, le résultat est considéré non résolu (UNR) et un nouveau test est nécessaire. Vérifiez le rapport de résultat et les valeurs Ct des cibles sélectionnées et prenez les mesures appropriées en tenant compte des éléments suivants :

- I. Lorsque les résultats des gènes cibles ne sont pas valables (Ct > 40), il est nécessaire de répéter le test à partir du même SBT ou à partir de l'échantillon primaire en préparant un nouveau SBT. Si un résultat UNR est obtenu à nouveau, deux scénarios doivent être envisagés. D'une part, la concentration de l'échantillon peut être inférieure à la LoD. Dans ce cas, il est recommandé d'obtenir un échantillon plus concentré. D'autre part, la présence potentielle d'inhibiteurs dans la réaction PCR doit être envisagée et il est recommandé de diluer ces échantillons au 1:10. Suivez les directives du laboratoire et les manuels de politique du laboratoire de microbiologie.
- II. Lorsque les résultats des gènes cibles de résistance aux macrolides, de sensibilité aux macrolides et/ou de *M. genitalium* sont valides (Ct ≤ 40), il est possible de ne pas observer d'amplification ou une amplification de l'EIC avec une valeur Ct > 35 lors du test d'échantillons hautement concentrés, en raison d'une amplification préférentielle des acides nucléiques spécifiques à la cible. Si cela est jugé nécessaire, diluez ces échantillons au 1/10, préparez à nouveau le Sample Buffer Tube (SBT) et répétez le test. Suivez les directives du laboratoire et les manuels de politique du laboratoire de microbiologie.

4 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.

Interprétation des résultats pour les échantillons d'urine

Résistance aux macrolides (nom de la cible : Res)	Sensibilité aux macrolides (nom de la cible : Sen)	<i>M. genitalium</i> (nom de la cible : Mg)	Interprétation pour chaque échantillon de patient
NEG	POS	POS	DNA de sensibilité aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> détectés, DNA de résistance aux macrolides non détecté
POS	NEG	POS	DNA de résistance aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> détectés, DNA de sensibilité aux macrolides non détecté
POS	POS	POS	DNA de résistance aux macrolides, de sensibilité aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> détectés. RÉSULTAT NON CONCLUANT ¹
POS	POS	NEG	DNA de résistance aux macrolides et de sensibilité aux macrolides détectés, DNA de <i>M. genitalium</i> non détecté. RÉSULTAT NON CONCLUANT ¹
POS	NEG	NEG	DNA de résistance aux macrolides détecté, DNA de sensibilité aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> non détectés. RÉSULTAT NON CONCLUANT ¹
NEG	POS	NEG	DNA de sensibilité aux macrolides détecté, DNA de résistance aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> non détectés. RÉSULTAT NON CONCLUANT ¹
NEG	NEG	POS	DNA de <i>M. genitalium</i> détecté, DNA de résistance aux macrolides et de sensibilité aux macrolides non détectés. RÉSULTAT NON CONCLUANT ^{1,2}
NEG	NEG	NEG	DNA de résistance aux macrolides, de sensibilité aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> non détectés
UNR	POS	POS	DNA de sensibilité aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> détectés, DNA de résistance aux macrolides non détecté ³
POS	UNR	POS	DNA de résistance aux macrolides et de <i>M. genitalium</i> détectés, DNA de sensibilité aux macrolides non détecté ³
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 ou des étapes d'amplification ⁴
POS	POS	UNR	Non résolu (UNR) – Répéter test ¹
POS	UNR	UNR	Non résolu (UNR) – Répéter test ¹
UNR	POS	UNR	Non résolu (UNR) – Répéter test ¹
UNR	UNR	POS	Non résolu (UNR) – Répéter test 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 ⁵
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 ⁵

Tableau 18. Interprétation pour les échantillons d'urine.

1 Test à répéter. Il est recommandé de répéter le test à partir du même Sample Buffer Tube (SBT) ou de l'échantillon primaire en préparant un nouveau SBT. Si le résultat reste non concluant, obtenez un nouvel échantillon (le plus concentré possible) et refaites le test.

REMARQUE : Les échantillons d'urine peuvent être conservés sans transfert dans le SBT pendant 4 heures maximum s'ils sont stockés à 25°C ou pendant 1 jour s'ils sont stockés à 4°C. 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 noter que les échantillons d'urine peuvent être conservés dans le SBT pendant 3 jours maximum à 25°C (s'ils ont été stockés auparavant à 25°C pendant 4 heures maximum) ou pendant 3 jours maximum à 4°C (s'ils ont été stockés auparavant à 4°C pendant 1 jour maximum).

2 Le kit détecte les mutations suivantes associées à la résistance aux macrolides : gène *23S rRNA* (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). En cas de présence d'une autre mutation, le kit n'est pas validé pour sa détection. Par conséquent, l'amplification sera observée dans le canal ROX (détection de *M. genitalium*) et non dans les canaux FAM et HEX (détection de la résistance aux macrolides et de la sensibilité aux macrolides, respectivement).

3 Bien que la valeur seuil pour la cible du contrôle interne endogène (EIC) dans les échantillons d'urine soit fixée à 40, en raison du faible nombre de cellules humaines dans l'urine, il est possible de ne pas observer la courbe d'amplification dans l'EIC en cas de signal positif pour les cibles résistance aux macrolides (canal FAM) ou sensibilité aux macrolides (canal HEX) et *Mycoplasma genitalium* (canal ROX). Dans ce cas, il n'y a aucun risque de faux positif, car l'amplification doit être observée simultanément dans deux canaux différents.

4 L'EIC doit présenter un signal d'amplification avec une valeur Ct \leq 40 pour être pris en compte. En l'absence de signal pour l'EIC ou si 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 SBT ou de l'échantillon primaire en préparant un nouveau SBT, ou d'obtenir un échantillon plus concentré. 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. Suivez les directives du laboratoire et les manuels de politique du laboratoire de microbiologie.

5 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). 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.
- VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System n'a été validé qu'avec des échantillons vaginaux prélevés par écouvillonnage et des échantillons d'urine féminine et masculine.
- 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 corrélérer 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 de *M. genitalium* résistant aux macrolides et/ou de *M. genitalium* sensible aux macrolides contenant de fortes concentrations du DNA cible ou à cause d'une contamination due à des produits PCR provenant de réactions antérieures.
- 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 nouvelles souches de *M. genitalium* ou de souches inconnues, ou des marqueurs génétiques de résistance et de sensibilité aux macrolides.
 - Une charge bactérienne 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.
- Le kit détecte les mutations suivantes associées à la résistance aux macrolides : gène *23S rRNA* (A2058T, A2058C, A2058G, A2059C, A2059G). La souche de *M. genitalium* résistante aux macrolides qui contient la mutation A2059T, qui est moins fréquente, ne peut être détectée par le dispositif. Dans ce cas uniquement, il est possible d'observer une amplification dans le canal ROX (détection de *M. genitalium*) et non dans les canaux FAM et HEX (détection de la résistance aux macrolides et de la sensibilité aux macrolides, respectivement).
- 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. Cependant, un résultat positif indique la présence des séquences cibles de *M. genitalium* résistant aux macrolides et de *M. genitalium* sensible aux macrolides.
- Un résultat négatif n'exclut pas la présence de DNA de *M. genitalium* résistant et/ou sensible aux macrolides 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 optimaux pour les pics de concentration microbienne pendant l'infection causée par *M. genitalium* 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) et/ou de résistance antimicrobienne sont négatifs et que les observations cliniques, les antécédents du patient et les informations épidémiologiques suggèrent qu'une infection à *M. genitalium* 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 de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance 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 VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance 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

VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System contient un contrôle interne endogène (EIC) dans chaque tube de réaction, 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 la matrice vaginale, d'échantillons d'urine masculine et féminine contenant une concentration connue de DNA spécifique et synthétique appartenant à *M. genitalium* sensible ou résistant aux macrolides (allant de 2E+07 à 2E+00 copies/μL). La moyenne arithmétique, l'écart type et le coefficient de variation des valeurs Ct, ainsi que l'efficacité et le coefficient de régression de la réaction PCR ont été calculés, et des exemples du graphique d'amplification résultant d'un test dans l'une des matrices évaluées sont inclus ci-dessous.

Figure 2. Dilution en série de DNA synthétique de *M. genitalium* sensible aux macrolides (gène *23S rRNA* (wild type) + gène de l'adhésine *MgPA*) (2E+07 à 2E+00 copies/μL) exécuté sur BD MAX™ System (canal 530/565 (HEX)).

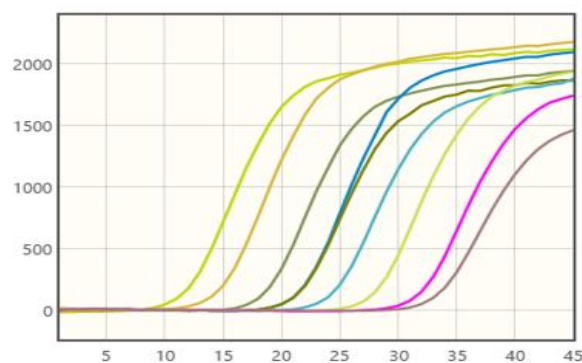


Figure 3. Dilution en série de DNA synthétique de *M. genitalium* résistant aux macrolides (gène *23S rRNA* (mutation A2058C) + gène de l'*adhésine MgPA*) ($2E+07$ à $2E+00$ copies/ μ L) exécuté sur BD MAX™ System (canal 475/520 (FAM)).

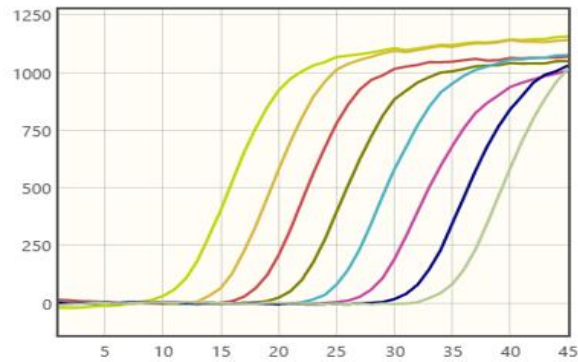


Figure 4. Dilution en série de DNA synthétique de *M. genitalium* résistant aux macrolides (gène *23S rRNA* (mutation A2058G) + gène de l'*adhésine MgPA*) ($2E+07$ à $2E+00$ copies/ μ L) exécuté sur BD MAX™ System (canal 475/520 (FAM)).

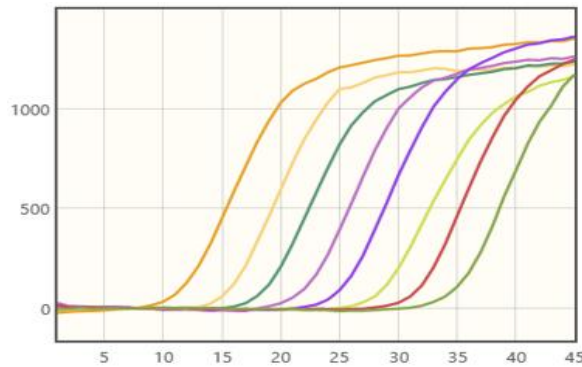


Figure 5. Dilution en série de DNA synthétique de *M. genitalium* résistant aux macrolides (gène *23S rRNA* (mutation A2058T) + gène de l'*adhésine MgPA*) ($2E+07$ à $2E+00$ copies/ μ L) exécuté sur BD MAX™ System (canal 475/520 (FAM)).

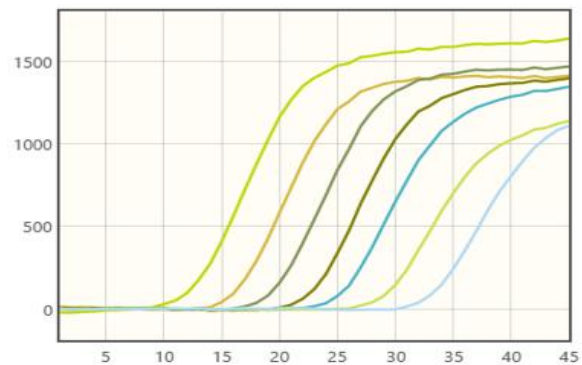


Figure 6. Dilution en série de DNA synthétique de *M. genitalium* résistant aux macrolides (gène *23S rRNA* (mutation A2059C) + gène de l'*adhésine MgPA*) ($2E+07$ à $2E+00$ copies/ μ L) exécuté sur BD MAX™ System (canal 475/520 (FAM)).

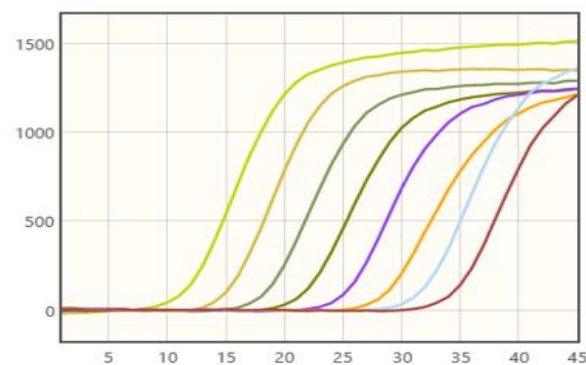
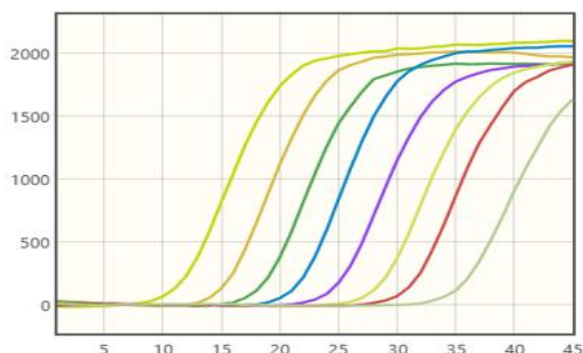


Figure 7. Dilution en série de DNA synthétique de *M. genitalium* résistant aux macrolides (gène *23S rRNA* (mutation A2059G) + gène de l'*adhésine MgPA*) ($2E+07$ à $2E+00$ copies/ μ L) exécuté sur BD MAX™ System (canal 475/520 (FAM)).



12.2. Sensibilité analytique. Limite de détection (LoD)

La sensibilité analytique ou la limite de détection (LoD) de VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System a été analysée avec trois lots en utilisant une matrice vaginale, des échantillons d'urine masculine et féminine. Les souches de référence ou le DNA synthétique (en cas d'indisponibilité de la souche) utilisés sont détaillés dans le tableau suivant :

	Cible	Souche/DNA synthétique	Référence externe
Sensibilité aux macrolides + <i>Mycoplasma genitalium</i>	Gène <i>23S rRNA</i> (wild type) + gène de l' <i>adhésine MgPA</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> , souche M30	49895™
Résistance aux macrolides + <i>Mycoplasma genitalium</i>	Gène <i>23S rRNA</i> (mutation A2058C) + gène de l' <i>adhésine MgPA</i>	DNA synthétique (MGRXPC)	n.a.
	Gène <i>23S rRNA</i> (mutation A2058G) + gène de l' <i>adhésine MgPA</i>	AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL	MBTC029
	Gène <i>23S rRNA</i> (mutation A2058T) + gène de l' <i>adhésine MgPA</i>	DNA synthétique (MGRXPC)	n.a.
	Gène <i>23S rRNA</i> (mutation A2059C) + gène de l' <i>adhésine MgPA</i>	DNA synthétique (MGRXPC)	n.a.
	Gène <i>23S rRNA</i> (mutation A2059G) + gène de l' <i>adhésine MgPA</i>	AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL	MBTC029

Tableau 19. Souches de référence et DNA synthétique utilisés pour le test de la limite de détection.

VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance* Assay for BD MAX™ System a montré une limite de détection indiquée dans le tableau suivant, avec un taux de positivité ≥ 95 %.

Limite de détection (LoD) (copies/μL)						
Matrice	<i>M. genitalium</i> sensible aux macrolides	<i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides (A2059G)	<i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides (A2058G)	<i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides (A2058C)	<i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides (A2058T)	<i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides (A2059C)
Urine féminine	3.33E-02	3.00E+00	9.99E-01	6.00E+00	6.00E+00	2.00E+00
Urine masculine	1.00E-01	9.00E-01	3.00E-01	2.00E+00	2.00E+00	2.00E+00
Échantillon vaginal	1.00E-01	2.70E+00	3.33E-01	2.00E+00	6.00E+00	2.00E+00

Tableau 20. Limite de détection de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

Par conséquent, les résultats obtenus montrent que la sensibilité du dispositif VIASURE est cohérente et fiable d'un lot de production à l'autre.

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 à *M. genitalium* sensible aux macrolides et à *M. genitalium* résistant aux macrolides. Les résultats ont permis de confirmer la détection correcte des cibles dans la plage de mesure indiquée dans le tableau suivant :

Cible	Plage de mesure (copies/μL)					
	Matrice d'urine féminine		Matrice d'urine masculine		Matrice vaginale	
<i>M. genitalium</i> sensible aux macrolides	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00
<i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides (A2059G)	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00
<i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides (A2058G)	2E+07	2E+01	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00
<i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides (A2058C)	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00	2E+07	2E+00
<i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides (A2058T)	2E+07	2E+00	2E+07	2E+01	2E+07	2E+01
<i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides (A2059C)	2E+07	2E+01	2E+07	2E+01	2E+07	2E+00

Tableau 21. Plage de mesure de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

En conclusion, la plage de mesure de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System a été déterminée avec succès selon les critères de validation d'acceptation initialement définis, garantissant des résultats fiables, précis et reproductibles sur un large spectre de charges bactériennes, affirmant son utilité dans divers scénarios de diagnostic clinique.

12.4. Exactitude

12.4.1. Justesse

La justesse de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System a été évaluée à l'aide du matériau de référence ci-dessous.

1. Fragments de cDNA synthétique

- Fragment de cDNA synthétique pour le gène *23S rRNA* (wild type) et le gène de l'*adhésine MgPA* de *M. genitalium* sensible aux macrolides : MGRXPC, canaux HEX et ROX.
- Fragment de cDNA synthétique pour le gène *23S rRNA* (mutation A2058C) et le gène de l'*adhésine MgPA* de *M. genitalium* résistant aux macrolides : MGRXPC, canaux FAM et ROX.
- Fragment de cDNA synthétique pour le gène *23S rRNA* (mutation A2058G) et le gène de l'*adhésine MgPA* de *M. genitalium* résistant aux macrolides : MGRXPC, canaux FAM et ROX.
- Fragment de cDNA synthétique pour le gène *23S rRNA* (mutation A2058T) et le gène de l'*adhésine MgPA* de *M. genitalium* résistant aux macrolides : MGRXPC, canaux FAM et ROX.
- Fragment de cDNA synthétique pour le gène *23S rRNA* (mutation A2059C) et le gène de l'*adhésine MgPA* de *M. genitalium* résistant aux macrolides : MGRXPC, canaux FAM et ROX.
- Fragment de cDNA synthétique pour le gène *23S rRNA* (mutation A2059G) et le gène de l'*adhésine MgPA* de *M. genitalium* résistant aux macrolides : MGRXPC, canaux FAM et ROX.

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

Référence externe	Microorganisme	Nom du produit	Variété
49895	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Souche M30
33530	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Souche G37
49898	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Souche TW48-5G
49123	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Souche TW10-5G
49899	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Souche UMTB-10G
49896	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Souche TW10-6G
49897	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al.	Souche R32G [R32]

Tableau 22. Matériau de référence de l'American Type Culture Collection (ATCC).

3. Contrôles

Référence externe	Microorganisme	Nom du produit	Variété
MBTC029	<i>Mycoplasma genitalium</i>	AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL	- Souche de type sensible - Mutation A2059G dans le gène <i>23 rRNA</i> - Mutation A2058G dans le gène <i>23 rRNA</i>

Tableau 23. Matériau de contrôle de Vircell S.L.

4. Programmes d'évaluation externe de la qualité (EQA)

Référence externe	Provenance	Microorganisme	Nom du produit	Variété
MG23S-03	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> G37 (WT)	Souche G37
MG23S-06	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6303	23S rDNA mutation A2059G, résistant aux macrolides
MG23S-07	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6593	23S rDNA mutation A2059G, résistant aux macrolides
MG101S-04	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6303	Résistance aux macrolides
MG101S-06	QCMD	<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i> M6593	Résistance aux macrolides

Tableau 24. Matériau de référence provenant de programmes d'évaluation externe de la qualité (EQA).

12.4.2. Fidélité

Pour déterminer la fidélité de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System, des tests intra-essai (répétabilité), inter-essai, inter-lots et inter-équipements (reproductibilité) ont été réalisés avec une matrice vaginale, une matrice d'urine féminine et masculine enrichie avec une concentration connue des souches de référence : *Mycoplasma genitalium*, souche M30 (Réf. : 49895™) pour *M. genitalium* sensible aux macrolides et AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (Réf. : MBTC029) pour *M. genitalium* résistant aux macrolides.

Intra-essai

Le test intra-essai comportait l'analyse de six répliqués de tous les échantillons lors de la même analyse avec VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Souche de <i>M. genitalium</i> sensible aux macrolides						
Matrice	Cible	Échantillon	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Urine masculine	Sensibilité aux macrolides	3xLoD	530/565 (HEX)	32,02	0,27	0,85
		5xLoD	530/565 (HEX)	30,98	0,32	1,03
		Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	31,57	0,34	1,09
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,72	0,26	0,86
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	34,38	0,80	2,32
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	34,05	0,53	1,55
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	35,23	1,20	3,41

Urine féminine	Sensibilité aux macrolides	3xLoD	530/565 (HEX)	34,02	0,83	2,44
		5xLoD	530/565 (HEX)	33,50	0,67	2,01
		Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	33,65	0,28	0,84
		5xLoD	585/630 (ROX)	33,05	0,54	1,64
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	32,75	0,50	1,53
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	33,22	0,37	1,12
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	32,97	0,23	0,71
Échantillon vaginal	Sensibilité aux macrolides	3xLoD	530/565 (HEX)	32,48	0,29	0,88
		5xLoD	530/565 (HEX)	30,90	0,71	2,30
		Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	31,32	0,44	1,41
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,10	0,66	2,19
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	31,12	0,47	1,50
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	31,20	0,61	1,97
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	31,23	0,25	0,80

Tableau 25. Résultats intra-essai de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System avec la souche de *M. genitalium* sensible aux macrolides. (Ct) = cycle seuil. (\bar{x}) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, n.a. = non applicable.

Souche de <i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides						
Matrice	Cible	Échantillon	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Urine masculine	Résistance aux macrolides	3xLoD	475/520 (FAM)	36,17	0,62	1,70
		5xLoD	475/520 (FAM)	35,05	0,63	1,81
		Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	35,00	0,99	2,84
		5xLoD	585/630 (ROX)	34,08	0,50	1,48
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	32,58	1,24	3,80
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	32,12	0,39	1,22
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	33,28	0,66	1,99
Urine féminine	Résistance aux macrolides	3xLoD	475/520 (FAM)	33,72	0,51	1,52
		5xLoD	475/520 (FAM)	33,30	0,37	1,12
		Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	32,67	0,48	1,48
		5xLoD	585/630 (ROX)	31,62	0,27	0,86
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	31,45	0,29	0,92
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	30,73	0,56	1,83
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	34,45	0,44	1,27
Échantillon vaginal	Résistance aux macrolides	3xLoD	475/520 (FAM)	34,33	1,34	3,90
		5xLoD	475/520 (FAM)	33,75	0,27	0,79
		Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	32,55	1,15	3,52
		5xLoD	585/630 (ROX)	32,02	0,34	1,07
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.

	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	32,13	0,73	2,28
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	31,20	0,72	2,29
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	34,15	0,50	1,46

Tableau 26. Résultats intra-essai de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System avec la souche de *M. genitalium* résistante aux macrolides. (Ct) = cycle seuil. (\bar{x}) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, n.a. = non applicable.

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 *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Souche de <i>M. genitalium</i> sensible aux macrolides						
Matrice	Cible	Échantillon	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Urine masculine	Sensibilité aux macrolides	3xLoD	530/565 (HEX)	34,48	0,85	2,46
		5xLoD	530/565 (HEX)	33,66	0,75	2,22
		Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	34,05	0,60	1,75
		5xLoD	585/630 (ROX)	33,38	0,56	1,68
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	34,06	1,65	4,85
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	34,04	1,85	5,44
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	34,10	1,74	5,09
Urine féminine	Sensibilité aux macrolides	3xLoD	530/565 (HEX)	34,36	1,80	5,24
		5xLoD	530/565 (HEX)	34,01	1,84	5,42
		Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	34,56	1,84	5,33
		5xLoD	585/630 (ROX)	33,78	1,33	3,94
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	33,81	1,75	5,18
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	33,29	0,98	2,94
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	34,04	1,39	4,10
Échantillon vaginal	Sensibilité aux macrolides	3xLoD	530/565 (HEX)	33,06	0,90	2,73
		5xLoD	530/565 (HEX)	31,90	0,68	2,13
		Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	32,04	0,89	2,77
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,98	0,69	2,24
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	31,21	0,51	1,62
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	31,03	0,55	1,76
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	30,84	0,77	2,49

Tableau 27. Résultats inter-essai de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System avec la souche de *M. genitalium* sensible aux macrolides. (Ct) = cycle seuil. (\bar{x}) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, n.a. = non applicable.

Souche de <i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides						
Matrice	Cible	Échantillon	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Urine masculine	Résistance aux macrolides	3xLoD	475/520 (FAM)	35,98	1,00	2,78
		5xLoD	475/520 (FAM)	35,31	0,90	2,56
		Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	34,61	1,08	3,12
		5xLoD	585/630 (ROX)	33,52	0,59	1,76
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	33,10	0,76	2,30
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	32,54	0,74	2,27
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	34,65	1,30	3,74
Urine féminine	Résistance aux macrolides	3xLoD	475/520 (FAM)	33,08	1,28	3,87
		5xLoD	475/520 (FAM)	31,98	0,79	2,48
		Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	31,92	1,01	3,15
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,91	0,70	2,27
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	31,15	0,43	1,40
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	30,14	0,54	1,78
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	33,54	1,09	3,25
Échantillon vaginal	Résistance aux macrolides	3xLoD	475/520 (FAM)	34,72	1,34	3,87
		5xLoD	475/520 (FAM)	34,22	1,27	3,71
		Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	32,52	1,16	3,57
		5xLoD	585/630 (ROX)	32,36	1,33	4,11
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	30,61	0,44	1,42
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	30,59	0,64	2,08
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	30,98	0,55	1,78

Tableau 28. Résultats inter-essai de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System avec la souche de *M. genitalium* résistante aux macrolides. (Ct) = cycle seuil. (\bar{x}) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, n.a. = non applicable.

Inter-lots

Les valeurs inter-lots ont été déterminées par l'analyse de six réplicats des différents échantillons avec trois lots de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Souche de <i>M. genitalium</i> sensible aux macrolides						
Matrice	Cible	Échantillon	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Urine masculine	Sensibilité aux macrolides	3xLoD	530/565 (HEX)	32,77	0,89	2,71
		5xLoD	530/565 (HEX)	31,46	0,57	1,81
		Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	31,70	0,47	1,48
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,52	0,50	1,64
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.

	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	34,74	0,67	1,92
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	34,96	1,48	4,22
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	35,44	1,01	2,85
Urine féminine	Sensibilité aux macrolides	3xLoD	530/565 (HEX)	34,72	0,81	2,34
		5xLoD	530/565 (HEX)	33,39	0,77	2,39
		Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	34,24	1,19	3,46
		5xLoD	585/630 (ROX)	32,96	0,77	2,32
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	35,46	1,79	5,08
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	34,58	1,15	3,32
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	33,53	0,58	1,74
Échantillon vaginal	Sensibilité aux macrolides	3xLoD	530/565 (HEX)	31,62	0,98	3,11
		5xLoD	530/565 (HEX)	30,88	0,83	2,67
		Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	31,02	0,94	3,03
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,37	0,73	2,40
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	31,29	0,46	1,47
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	31,26	0,38	1,23
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	31,06	0,39	1,27

Tableau 29. Résultats inter-lots de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System avec la souche de *M. genitalium* sensible aux macrolides. (Ct) = cycle seuil. (\bar{x}) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, n.a. = non applicable.

Souche de <i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides						
Matrice	Cible	Échantillon	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Urine masculine	Résistance aux macrolides	3xLoD	475/520 (FAM)	36,46	1	2,73
		5xLoD	475/520 (FAM)	35,47	0,76	2,14
		Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	34,68	0,76	2,20
		5xLoD	585/630 (ROX)	33,85	0,63	1,86
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	33,57	1,25	3,73
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	32,55	0,61	1,88
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	32,49	0,73	2,24
Urine féminine	Résistance aux macrolides	3xLoD	475/520 (FAM)	32,81	0,96	2,93
		5xLoD	475/520 (FAM)	32,38	0,84	2,59
		Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	31,27	1,15	3,68
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,57	0,92	3,02
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	30,25	0,91	3,02
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	30,13	0,58	1,92
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	33,51	1,02	3,06
Échantillon vaginal	Résistance aux macrolides	3xLoD	475/520 (FAM)	34,34	1,39	4,05

Souche de <i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides						
Matrice	Cible	Échantillon	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
		5xLoD	475/520 (FAM)	33,96	0,62	1,82
		Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	n.a.	n.a.
		3xLoD	585/630 (ROX)	32,66	1,26	3,85
	<i>M. genitalium</i>	5xLoD	585/630 (ROX)	32,23	0,51	1,60
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
		3xLoD	680/715 (CY5.5)	31,43	0,75	2,40
	EIC	5xLoD	680/715 (CY5.5)	30,76	0,58	1,87
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	32,24	1,44	4,46

Tableau 30. Résultats inter-lots de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System avec la souche de *M. genitalium* résistante aux macrolides. (Ct) = cycle seuil. (\bar{x}) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, n.a. = non applicable.

Inter-équipements

Les valeurs inter-équipements ont été déterminées avec six réplicats des mêmes échantillons utilisés pour l'intra-essai, l'inter-essai et l'inter-lots, en utilisant VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Ces tests ont été réalisés sur trois sites de laboratoire avec trois BD MAX™ System différents. Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Souche de <i>M. genitalium</i> sensible aux macrolides						
Matrice	Cible	Échantillon	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Urine masculine	Sensibilité aux macrolides	3xLoD	530/565 (HEX)	31,96	0,43	1,35
		5xLoD	530/565 (HEX)	31,00	0,40	1,30
		Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	31,78	0,56	1,75
		5xLoD	585/630 (ROX)	30,88	0,9	0,94
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	34,48	0,87	2,53
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	34,51	0,87	2,51
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	32,46	0,62	1,92
Urine féminine	Sensibilité aux macrolides	3xLoD	530/565 (HEX)	34,31	0,97	2,81
		5xLoD	530/565 (HEX)	33,72	0,52	1,54
		Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	33,85	0,80	2,35
		5xLoD	585/630 (ROX)	33,38	0,63	1,88
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	33,16	0,56	1,69
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	33,06	0,44	1,32
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	33,08	0,62	1,87
Échantillon vaginal	Sensibilité aux macrolides	3xLoD	530/565 (HEX)	32,55	0,81	2,48
		5xLoD	530/565 (HEX)	32,57	0,52	1,60
		Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	31,42	0,88	2,81

Souche de <i>M. genitalium</i> sensible aux macrolides						
Matrice	Cible	Échantillon	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
		5xLoD	585/630 (ROX)	31,54	0,44	1,40
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	31,12	0,33	1,07
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	33,58	0,56	1,68
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	30,84	0,50	1,61

Tableau 31. Résultats inter-équipements de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System avec la souche de *M. genitalium* sensible aux macrolides. (Ct) = cycle seuil. (\bar{x}) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, n.a. = non applicable.

Souche de <i>M. genitalium</i> résistant aux macrolides						
Matrice	Cible	Échantillon	Canal	Ct (\bar{x})	σ	CV %
Urine masculine	Résistance aux macrolides	3xLoD	475/520 (FAM)	36,58	1,31	3,58
		5xLoD	475/520 (FAM)	35,13	0,53	1,51
		Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	34,81	0,86	2,46
		5xLoD	585/630 (ROX)	34,00	0,44	1,30
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	32,29	0,90	2,79
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	31,88	0,67	2,11
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	32,89	0,77	2,34
Urine féminine	Résistance aux macrolides	3xLoD	475/520 (FAM)	33,67	0,43	1,28
		5xLoD	475/520 (FAM)	32,85	0,64	1,96
		Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	32,46	0,44	1,35
		5xLoD	585/630 (ROX)	31,44	0,42	1,34
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	31,40	0,26	0,82
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	30,66	0,43	1,41
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	34,59	0,65	1,87
Échantillon vaginal	Résistance aux macrolides	3xLoD	475/520 (FAM)	34,47	0,89	2,59
		5xLoD	475/520 (FAM)	33,46	0,61	1,84
		Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	n.a.	n.a.
	<i>M. genitalium</i>	3xLoD	585/630 (ROX)	32,75	0,77	2,35
		5xLoD	585/630 (ROX)	31,77	0,63	1,97
		Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	n.a.	n.a.
	EIC	3xLoD	680/715 (CY5.5)	31,87	0,57	1,78
		5xLoD	680/715 (CY5.5)	31,27	0,59	1,88
		Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	33,72	0,54	1,61

Tableau 32. Résultats inter-équipements de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System avec la souche de *M. genitalium* résistante aux macrolides. (Ct) = cycle seuil. (\bar{x}) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, n.a. = non applicable.

En conclusion, l'étude de précision a confirmé les performances fiables et l'homogénéité du test dans toutes les matrices testées, répondant aux critères de validation d'acceptation initialement définis.

12.5. Spécificité et réactivité analytiques

La spécificité et la réactivité analytiques ont été évaluées pour VIASURE *Mycoplasma genitalium* with *Macrolide Resistance 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 matériau 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 deux composantes à prendre en compte pour la spécificité analytique : la réactivité croisée et l'interférence. La réactivité croisée peut survenir lorsque des séquences génétiquement apparentées sont présentes dans un échantillon de patient, tandis que l'interférence peut avoir lieu si la présence de substances spécifiques potentiellement présentes dans les matrices de l'échantillon affecte les performances de la qPCR.

Analyse de la réactivité croisée *in silico*

La réactivité croisée a été évaluée en utilisant des séquences de référence des agents pathogènes issus de NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) et/ou d'outils de recherche et/ou d'alignement comme BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) ainsi que d'un logiciel d'analyse bio-informatique interne. Une analyse BLAST de chaque amorce et sonde sur la base de données de nucléotides de la NCBI Genbank ainsi qu'une analyse bio-informatique interne ont été réalisées.

Les séquences alignées présentant un score d'alignement inférieur à 80 % d'homologie ont été jugées peu susceptibles d'être détectées. Les résultats obtenus sont les suivants :

***Mycoplasma genitalium* (gène de l'adhésine MgPA)**

L'ensemble des séquences analysées présentent une homologie inférieure à 80 % avec le jeu d'amorces et de sondes de *Mycoplasma genitalium* (gène de l'adhésine MgPA).

Par conséquent, la cible VIASURE *Mycoplasma genitalium* ne devrait pas provoquer de faux positifs dans la détection de *Mycoplasma genitalium* lorsque d'autres organismes sont présents.

***Mycoplasma genitalium* (gène 23S rRNA)**

L'analyse BLAST filtrée par le gène 23S rRNA de *M. genitalium* (à l'exclusion de *M. genitalium*) montre une homologie élevée entre les amorces et les sondes et plusieurs séquences « *Uncultured Mycoplasma sp.* (ID de taxonomie : 167967) » et une séquence « *Synthetic Mycoplasma genitalium JCVI-1.0* (ID de taxonomie : 488339) ».

Les séquences « *Uncultured Mycoplasma sp.* (ID de taxonomie : 167967) » sont détectées avec les amorces et les sondes de *M. genitalium* résistant et sensible aux macrolides. Par conséquent, il n'y a aucun risque de

réactivité croisée dans le produit, car pour qu'un échantillon soit considéré comme positif, il est nécessaire de détecter le micro-organisme (*M. genitalium*) dans le canal et la résistance ou la sensibilité aux macrolides dans le canal.

« *Synthetic Mycoplasma genitalium JCVI-1.0* (ID de taxonomie : 488339) » est détecté avec les amorces et sondes sensibles aux macrolides. Il s'agit d'une séquence correspondant au micro-organisme cible et elle doit être détectée. Cette séquence apparaît dans la réactivité croisée, car elle possède un ID de taxonomie différent de celui utilisé dans l'exclusion.

Par conséquent, aucune des séquences analysées, y compris celles présentant une homologie supérieure à 80 %, ne peut affecter la détection correcte de *Mycoplasma genitalium* (gène *23S rRNA*).

Spécificité analytique, analyse expérimentale

Réactivité croisée, analyse expérimentale

La réactivité croisée de VIASURE *Mycoplasma genitalium with Macrolide Resistance Assay* for BD MAX™ System a été confirmée 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)/mL pour les bactéries et 1E+04 - 1E+05 PFU (unités formant une plaque)/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>	-	<i>Haemophilus ducreyi</i>	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> , souche TW48-5G	-/+
<i>Aspergillus fumigatus</i>	-	Haemophilus influenzae	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> , souche UMTB-10G	-/+
<i>Atopobium vaginae</i>	-	Herpes simplex virus 2	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> Tully et al., souche TW10-5G	-/+
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	Human Herpesvirus 1, souche HF	-	<i>Mycoplasma hominis</i>	-
<i>Candida albicans</i>	-	Human papillomavirus 16	-	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-
<i>Candida dubliniensis</i>	-	Human papillomavirus 18	-	<i>Neisseria meningitidis</i>	-
<i>Candida glabrata</i>	-	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	<i>Proteus mirabilis</i>	-
<i>Candida krusei</i>	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-
<i>Candida parapsilosis</i>	-	<i>Listeria innocua</i>	-	<i>Serratia marcescens</i>	-
<i>Candida tropicalis</i>	-	<i>Listeria ivanovii</i> sous-esp. ivanovii	-	<i>Staphylococcus aureus</i>	-
<i>Chlamydia trachomatis</i> , Serovars Panel	-	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	<i>Listeria monocytogenes</i>	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-

Test de réactivité croisée					
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> , souche G37	-/+	<i>Treponema pallidum</i>	-
<i>Enterococcus faecium</i>	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> , souche R32G [R32]	-/+	<i>Trichomonas vaginalis</i>	-
<i>Escherichia coli</i>	-	<i>Mycoplasma genitalium</i> , souche TW10-6G	-/+	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	-
<i>Gardnerella vaginalis</i>	-				

Tableau 33. Micro-organismes 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 ont satisfait aux critères de validation d'acceptation et indiquent une spécificité élevée de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System pour la détection des souches ciblées de *M. genitalium* résistantes aux macrolides et de *M. genitalium* sensibles aux macrolides, minimisant ainsi 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 précision les cibles.

Étude des agents microbiens interférents

Une étude sur les agents microbiens interférents a été réalisée pour analyser les agents microbiens interférents potentiels pour VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Un panel de différents micro-organismes pertinents sur le plan clinique, environnemental et phylogénétique a été testé en présence des souches de référence : *Mycoplasma genitalium*, souche M30 (Réf. : 49895™) pour *M. genitalium* sensible aux macrolides et AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (Réf. : MBTC029) pour *M. genitalium* résistant aux macrolides. 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)/mL pour les bactéries et 1E+04 - 1E+05 PFU (unités formant une plaque)/mL pour les virus). Chaque analyse ponctuelle a été réalisée une fois par échantillon.

Le contrôle matrice positive (Positive Matrix Control, PMC) et le contrôle matrice négative (Negative Matrix Control, NMC) sont inclus comme contrôles du test. PMC correspond à la matrice vaginale, à la matrice d'urine féminine et masculine enrichie de souches de *M. genitalium* résistantes aux macrolides et sensibles aux macrolides spécifiques sans agent microbien interférent, tandis que NMC correspond aux matrices négatives sans agent microbien interférent.

Nom du micro-organisme	Concentration testée	Résultat
PMC	-	n.a.
NMC	-	n.a.
<i>Acinetobacter baumannii</i>	8,10E+05 CFU/mL	N.I
<i>Gardnerella vaginalis</i>	4,40E+01 CFU/μL	N.I
<i>Haemophilus influenzae</i>	5,20E+02 CFU/μL	N.I
Herpes simplex virus 1	1,60E+05 TCID50/mL	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i>	5,80E+06 CFU/mL	N.I
<i>Mycoplasma hominis</i>	4,70E+06 CFU/mL	N.I
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,09E+05 CFU/mL	N.I
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,60E+05 CFU/mL	N.I
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,80E+01 CFU/μL	N.I
<i>Treponema pallidum</i>	3,40E+04 cellules/mL	N.I
<i>Klebsiella oxytoca</i>	7,60E+03 cop/μL	N.I
<i>Escherichia coli</i>	n.a.	N.I
<i>Aspergillus fumigatus</i>	n.a.	N.I
<i>Atopobium vaginae</i>	4,52E+03 CFU/μL	N.I
<i>Candida albicans</i>	4,18E+04 CFU/μL	N.I
<i>Candida glabrata</i>	2,46E+03 CFU/μL	N.I
<i>Candida tropicalis</i>	2,88E+03 CFU/μL	N.I
<i>Chlamydia trachomatis</i> , sérovars E	6,40E+05 IFU/mL	N.I
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,28E+03 CFU/μL	N.I
<i>Enterococcus faecalis</i>	5,00E+04 CFU/mL	N.I
<i>Enterococcus faecium</i>	3,50E+04 CFU/mL	N.I
Herpes simplex virus 2	7,24E+03 TCID50/mL	N.I
Human papillomavirus 16	1,00E+02 IU/μL	N.I
Human papillomavirus 18	1,00E+02 IU/μL	N.I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,65E+03 CFU/μL	N.I
<i>Listeria monocytogenes</i>	n.a.	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>Proteus mirabilis</i>	2,55E+03 CFU/μL	N.I
<i>Serratia marcescens</i>	n.a.	N.I
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	9,20E+03 CFU/μL	N.I
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	2,00E+04 CFU/μL	N.I

Tableau 34. Test des agents microbiens interférents. N.I. = Pas d'interférence., n.a. = non applicable.

En conclusion, aucune interférence n'a été observée dans la détection du RNA de *M. genitalium* sensible et/ou résistant aux macrolides dans la matrice vaginale, l'urine féminine et masculine 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 *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Au total, 17, 25 et 28 substances potentiellement interférentes ont été ajoutées à la matrice négative d'écouvillon vaginal, d'urine masculine et d'urine féminine, respectivement, enrichies avec les souches de référence : *Mycoplasma genitalium*, souche M30 (Réf. : 49895™) pour *M. genitalium* sensible aux macrolides et AMPLIRUN® TOTAL MACROLIDE RESISTANT MGE CONTROL (Réf. : MBTC029) pour *M. genitalium* résistant aux macrolides et évaluées avec six réplicats.

Le contrôle matrice positive (Positive Matrix Control, PMC) et le contrôle matrice négative (Negative Matrix Control, NMC) sont inclus comme contrôles du test. PMC correspond à la matrice vaginale prélevée dans Copan eSwab®, à la matrice d'urine féminine et masculine enrichie de souches de *M. genitalium* résistantes aux macrolides et sensibles aux macrolides spécifiques sans substance interférente, tandis que NMC correspond aux matrices négatives sans substance interférente ni micro-organismes/matériau de référence ajoutés. Les résultats suivants ont été obtenus :

Matrice vaginale		
Nom de la substance	Concentration testée	Résultat
PMC	-	n.a.
NMC	-	n.a.
Acyclovir	6,60E-02 mg/mL	N.I.
Métronidazole	1,23E-01 mg/mL	N.I.
Clotrimazole	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Nitrate de miconazole	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Gel contraceptif Conceptrol (Nonoxynol-9)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Tioconazole	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Leucocytes/monocytes	2,00E+06 cellule/mL	N.I.
Premeno Duo (acide hyaluronique et acide lactique)	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Déodorant féminin en spray	5,00E+01 µL/mL	N.I.
Lubrifiant vaginal liquide – Durex Frescor à base d'eau	5,00E+01 µL/mL	N.I.
Lubrifiant vaginal – Huile intime SOIVRE à base d'huile	5,00E+01 µL/mL	N.I.
Crème vaginale DermoVagisil	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Gel anti-hémorroïdaire HEMOAL Préparation H	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Estradiol	7,50E-03 ng/mL	N.I.
Progestérone	6,00E+00 ng/mL	N.I.
Sperme	5 %	N.I.
Sang total	1 %	N.I.

Tableau 35. Substances potentiellement interférentes dans la matrice vaginale. N.I : aucune interférence à signaler / I : interférence, n.a. = non applicable.

Urine masculine		
Nom de la substance	Concentration testée	Résultat
PMC	-	n.a.
NMC	-	n.a.
Ibuprofène	2,19E-01 mg/mL	N.I.
Naproxène	3,60E-01 mg/mL	N.I.
Amoxicilline	5,40E-02 mg/mL	N.I.
Azithromycine	1,10E-02 mg/mL	N.I.
Ceftriaxone	8,40E+01 mg/dL	N.I.
Érythromycine	1,38E-01 mg/mL	N.I.
Métronidazole	1,23E-01 mg/mL	N.I.
Sulfaméthoxazole	1,12E+00 mg/mL	N.I.
Chlorhydrate de tétracycline	2,40E-02 µg/mL	N.I.
Triméthoprim	4,20E-02 µg/mL	N.I.
Albumine	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Bilirubine	4,00E-01 mg/mL	N.I.
Glucose (Dextrose)	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Leucocytes/monocytes	2,00E+06 cellule/mL	N.I.
pH bas (HCl)	n.a.	N.I.
pH élevé (NaOH)	n.a.	N.I.
Sperme	5 %	N.I.
Urée	1,20E+00 mg/mL	N.I.
Acide urique	2,35E-01 mg/mL	N.I.
Sang total	1 %	I.*
	0,25 %	N.I.
	0,125 %	N.I.
Anthocyanine (canneberge <i>Vaccinium macrocarpon</i>)	1,09E-01 mg/mL	N.I.
Talquistina	2,64E+00 mL Talq/mL dvte	N.I.
4-Acétamidophénol	1,56E-01 mg/mL	N.I.
Chlorhydrate de phénazopyridine	1,60E-01 mg/mL	N.I.
Acide salicylique	1,50E-01 mg/mL	N.I.

Tableau 36. Substances potentiellement interférentes dans la matrice d'urine masculine. N.I. : aucune interférence à signaler / I : interférence, n.a. = non applicable.

* Inhibition observée uniquement pour la cible *Mycoplasma genitalium* résistant aux macrolides.

Matrice d'urine féminine		
Nom de la substance	Concentration testée	Résultat
PMC	-	n.a.
NMC	-	n.a.
Ibuprofène	2,19E-01 mg/mL	N.I.
Naproxène	3,60E-01 mg/mL	N.I.
Amoxicilline	5,40E-02 mg/mL	N.I.
Azithromycine	1,10E-02 mg/mL	N.I.
Ceftriaxone	8,40E+01 mg/dL	N.I.
Érythromycine	1,38E-01 mg/mL	N.I.
Métronidazole	1,23E-01 mg/mL	N.I.
Sulfaméthoxazole	1,12E+00 mg/mL	N.I.
Chlorhydrate de tétracycline	2,40E-02 µg/mL	N.I.
Triméthoprime	4,20E-02 µg/mL	N.I.
Albumine	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Bilirubine	4,00E-01 mg/mL	N.I.
Glucose (Dextrose)	1,00E+01 mg/mL	N.I.
Leucocytes/monocytes	2,00E+06 cellule/mL	N.I.
pH bas (HCl) 4	n.a.	I.*
pH bas (HCl) 5	n.a.	I.*
pH bas (HCl) 6	n.a.	N.I.
pH élevé (NaOH)	n.a.	N.I.
Sperme	5 %	N.I.
Urée	1,20E+00 mg/mL	N.I.
Acide urique	2,35E-01 mg/mL	N.I.
Sang total	1 %	N.I.
Anthocyanine (canneberge <i>Vaccinium macrocarpon</i>)	1,09E-01 mg/mL	N.I.
Talquistina	2,64E+00 mL Talq/mL dvte	N.I.
4-Acétamidophénol	1,56E-01 mg/mL	I.*
	3,90E-02 mg/mL	N.I.
	9,75E-03 mg/mL	N.I.
Chlorhydrate de phénazopyridine	1,60E-01 mg/mL	N.I.
Acide salicylique	1,50E-01 mg/mL	N.I.
17- α -éthynylestradiol	7,50E-03 ng/mL	N.I.
Noréthindrone	1,60E+01 ng/mL	N.I.
Déodorant féminin en spray	5,00E+01 µL/mL	N.I.

Tableau 37. Substances potentiellement interférentes dans la matrice d'urine féminine. N.I : aucune interférence à signaler / I : interférence, n.a. = non applicable.

* Inhibition observée uniquement pour la cible *Mycoplasma genitalium* sensible aux macrolides.

En conclusion, différentes substances potentiellement interférentes, endogènes et exogènes, ont été testées avec VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System. Les résultats obtenus permettent de conclure que, aux concentrations 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 *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System a été évaluée en utilisant la base de données de séquences d'acides nucléiques 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 2 399 séquences analysées (séquences téléchargées à partir de la base de données après suppression des doublons). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau suivant :

<i>Mycoplasma genitalium</i>					
Gène	Séquences alignées : 486				
	Sans mésappariement	Avec mésappariements	Séquences avec détection confirmée	Séquences sans détection	Séquences à détection inconnue
<i>Adhésine MgPA</i>	74,07 %	25,93 %	74,07 %	0 %	25,93 %*
<i>Mycoplasma genitalium</i>					
Gène	Séquences alignées : 17				
	Sans mésappariement	Avec mésappariements	Séquences avec détection confirmée	Séquences sans détection	Séquences à détection inconnue
<i>23S RNA</i>	82,35 %	17,65 %	100 %	0 %	0 %

Tableau 38. 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 expérimentalement 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.

* Il convient de noter que 20,78 % du total des séquences alignées (101/486) présentaient des mésappariements non critiques qui sont considérés comme détectés.

En résumé, l'analyse d'inclusivité a montré une détection correcte des gènes d'*adhésine MgPA* et *23S rRNA* de *M. genitalium* avec VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

Réactivité analytique, analyse expérimentale

La réactivité analytique de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System pour *Mycoplasma genitalium* a été évaluée par rapport au DNA des souches suivantes, avec les résultats positifs suivants :

- *Mycoplasma genitalium*, souche G37 (Code ATCC : 33530)
- *Mycoplasma genitalium*, souche TW48-5G (Code ATCC : 49898)
- *Mycoplasma genitalium*, souche TW10-5G (Code ATCC : 49123)
- *Mycoplasma genitalium*, souche UMTB-10G (Code ATCC : 49899)
- *Mycoplasma genitalium*, souche TW10-6G (Code ATCC : 49896)
- *Mycoplasma genitalium*, souche R32G [R32] (Code ATCC : 49897)

12.6. Traçabilité métrologique

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

13. Caractéristiques des performances cliniques

Les performances cliniques de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System ont été testées en utilisant des échantillons vaginaux et des échantillons d'urine. Les résultats étaient les suivants :

	Site	Type d'échantillon	Flux de travail	Cible
1	Certest Biotec S.L. en collaboration avec Hospital Universitario Miguel Servet (Saragosse, Espagne)	Échantillons vaginaux prélevés par écouvillonnage	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	<i>Mycoplasma genitalium</i> sensible aux macrolides
				<i>Mycoplasma genitalium</i> résistant aux macrolides
2	Certest Biotec S.L. (Saragosse, Espagne) en utilisant des échantillons provenant de Cerba Xpert	Urine	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	<i>Mycoplasma genitalium</i> sensible aux macrolides
				<i>Mycoplasma genitalium</i> résistant aux macrolides

Tableau 39. Site, type d'échantillon, flux de travail et cible.

Les valeurs des vrais positifs et négatifs, les valeurs des faux positifs et négatifs, la sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positives (PPV), les valeurs prédictives négatives (NPV) et les rapports de vraisemblance (LR) pour VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System ont été calculés par rapport à chaque test de comparaison comme indiqué dans le tableau suivant :

Site	Test comparateur	Cible	TP	TN	FP	FN	Sensibilité	Spécificité	PPV	NPV	LR+	LR-
1	Allplex™ MG & AziR Assay (Seegene)	MG résistant aux macrolides	43	96	0	2	0,96 (0,85-0,99)	1,00 (0,96-1,00)	1,00 (0,91-1,00)	0,98 (0,93-1,00)	183,46 (11,55-2914)	0,055 (0,016-0,182)
		MG sensible aux macrolides	50	86	3	2	0,96 (0,87-0,99)	0,97 (0,91-0,99)	0,94 (0,85-0,99)	0,98 (0,92-1,00)	28,53 (9,37-86,88)	0,040 (0,010-0,155)
2	Allplex™ MG & AziR Assay (Seegene)	MG résistant aux macrolides	44	107	0	0	1,00 (0,92-1)	1,00 (0,97-1)	1,00 (0,92-1)	1,00 (0,97-1)	213,6 (13,4-3394)	0,011 (0,001-0,176)
		MG sensible aux macrolides	54	95	0	2	0,96 (0,88-0,99)	1,00 (0,96-1)	1,00 (0,93-1)	0,98 (0,93-0,99)	183,6 (11,6-2916)	0,044 (0,013-0,148)

Tableau 40. 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 *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

En conclusion, les résultats montrent une concordance élevée pour détecter *Mycoplasma genitalium* sensible aux macrolides et résistant aux macrolides en utilisant VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System.

14. Résumé des caractéristiques de sécurité et des performances

Le résumé des caractéristiques de sécurité et des performances de VIASURE *Mycoplasma genitalium* with Macrolide Resistance Assay for BD MAX™ System peut être téléchargé à partir de la page Web : certest.es/viasure/labeling. Ce résumé se trouve également sur le site Web de l'EUDAMED (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Bibliographie

Baumann, L., Cina, M., Egli-Gany, D., Goutaki, M., Halbeisen, F. S., Lohrer, G.-R., Ali, H., Scott, P., & Low, N. (2018). Prevalence of *Mycoplasma genitalium* in different population groups: systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Infect*, *94*, 254–261. <https://doi.org/10.1136/sextrans-2017-053384>

Gnanadurai, R., & Fifer, H. (2020). *Mycoplasma genitalium*: A review. *Microbiology*, *166*, 21–29. <https://doi.org/10.1099/mic.0.000830>













Heavey, E. (2017). *Mycoplasma genitalium*. *Nursing*, *47*(7), 61–62. <https://doi.org/10.1097/01.NURSE.0000520524.30192.07>

Jensen, J. S., Cusini, M., Gomberg, M., Moi, H., Wilson, J., & Unemo, M. (2022). 2021 European guideline on the management of *Mycoplasma genitalium* infections. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, *36*, 641–650. <https://doi.org/10.1111/jdv.17972>

Patel, P. H., & Hashmi, M. F. (2023). Macrolides. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551495/>

van der Schalk, T. E., Braam, J. F., & Kusters, J. G. (2020). Molecular basis of antimicrobial resistance in *Mycoplasma genitalium*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, *55*, 105911. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105911>

Symboles pour les composants IVD et réactifs

 IVD	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-444224en0226.00	18/02/2026

Tableau A2. Tableau de contrôle des modifications.

Révision : 18 février 2026

VIASURE

by **certest**



 **Certest Biotec, S.L.**
Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, Nº1 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.