

REF **200400 NeuMoDx™ GBS Test Strip**
R only

ATTENTION : pour exportation aux États-Unis uniquement

IVD Pour diagnostic *in vitro*, utiliser les NeuMoDx 288 et NeuMoDx 96 Molecular Systems

 Pour les mises à jour des encarts, accéder à : www.qiagen.com/neumodx-ifu

Pour des instructions détaillées, se reporter au Manuel d'utilisation du NeuMoDx 288 Molecular System ; réf. 40600108

Pour des instructions détaillées, se reporter au Manuel d'utilisation du NeuMoDx 96 Molecular System ; réf. 40600317

UTILISATION PRÉVUE

Le NeuMoDx GBS Assay tel qu'il est exécuté sur le NeuMoDx 288 Molecular System et le NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx System(s)) est un test de diagnostic qualitatif *in vitro* conçu pour détecter l'ADN de *Streptococcus* du groupe B (GBS) à partir d'écouillons vaginaux/rectaux prélevés chez la femme enceinte et enrichis pendant 18 à 24 heures dans du bouillon de Lim. Ce test incorpore une extraction de l'ADN automatisée qui isole les acides nucléiques de la cible dans l'échantillon, et une réaction d'amplification en cascade par polymérase (polymerase chain reaction, PCR) en temps réel visant à détecter une région à 88 paires de base dans la séquence du gène *pcsB* présent sur le chromosome de *Streptococcus agalactiae*. Les résultats du NeuMoDx GBS Assay peuvent être utilisés pour aider à la détermination du statut de colonisation chez les femmes enceintes.

Le NeuMoDx GBS Assay ne fournit pas de résultats relatifs à la susceptibilité. Des isolats de culture sont nécessaires pour effectuer les tests de susceptibilité recommandés pour les femmes allergiques à la pénicilline.

RÉSUMÉ ET EXPLICATIONS

Un écouillon vaginal/rectal est prélevé et transporté au laboratoire au moyen de systèmes de transport d'écouillons bactériens standard contenant un milieu de transport non nutritif. Les milieux de transport appropriés sont disponibles sur le marché (p. ex. Amies ou Stuart). Au laboratoire, l'échantillon est inoculé dans un milieu d'enrichissement sélectif comme le bouillon de Lim (bouillon Todd-Hewitt complété par de la colistine et de l'acide nalidixique). Après incubation du bouillon sélectif inoculé pendant 18 à 24 heures à 37 °C à l'air ambiant ou sous 5 % de CO₂, une aliquote du bouillon est mélangée avec le NeuMoDx Lysis Buffer 4 afin de commencer la lyse de l'échantillon et elle est traitée intégralement sur le NeuMoDx System avec les réactifs de la NeuMoDx GBS Test Strip. Le NeuMoDx System extrait automatiquement les acides nucléiques de la cible et amplifie une section de la séquence du gène *pcsB* du chromosome de GBS, s'il est présent. La NeuMoDx GBS Test Strip comprend un contrôle des processus de traitement des échantillons d'ADN (Sample Process Control, SPC1) qui contrôle la présence de substances inhibitrices potentielles ainsi que les échecs potentiels du système ou des réactifs qui peuvent survenir durant les processus d'extraction et d'amplification.

GBS est une bactérie à Gram positif que l'on retrouve chez 10 à 35 % des sujets adultes en bonne santé. Une personne porteuse de GBS sans présenter de symptômes d'infection à GBS est dite « colonisée » par GBS. GBS est une bactérie fréquemment rencontrée, associée au corps humain. Dans certaines circonstances, GBS peut envahir l'organisme et causer une infection grave ; on parle d'infection à *Streptocoque B*¹.

GBS peut causer de graves maladies chez le nouveau-né et il est connu pour être la principale cause d'infection bactérienne potentiellement mortelle chez le nouveau-né. Un certain nombre de souches de cet agent pathogène circulent dans la population générale, et environ 80 % des infections des nouveau-nés sont acquises durant l'accouchement par transmission verticale (mère-à-enfant). Les études montrent que GBS colonise la muqueuse anogénitale de 25 à 40 % des femmes en bonne santé. Avant la mise en place d'une prévention active, on estimait à 7 500 le nombre de cas d'infections à GBS néonatale chaque année aux États-Unis.¹ Le déclin frappant de l'incidence de la maladie coïncide avec l'intensification des activités de prévention dans les années 1990,² et une nouvelle réduction est intervenue après la publication de la recommandation de dépistage universel en 2002.³ Malgré l'introduction d'une prophylaxie antibiotique aux États-Unis, l'infection à GBS reste la principale cause infectieuse de morbidité et de mortalité chez les nouveau-nés aux États-Unis, avec environ 2 000 cas d'infections néonatales par an et un taux de mortalité estimé à 0,27 pour 1 000 naissances vivantes.⁴⁻⁶

La norme de soins actuelle pour la prévention de l'infection néonatale à GBS est le dépistage des femmes enceintes à 35–37 semaines de grossesse pour déterminer leur statut de colonisation à GBS.⁷ Lorsque le test de GBS est effectué par culture, il peut s'écouler jusqu'à 48 heures avant l'identification définitive du GBS après l'étape initiale d'incubation ≥ à 18 heures. La NeuMoDx GBS Test Strip, telle qu'elle est utilisée sur le NeuMoDx System, est capable de fournir des résultats pour les 8 premiers échantillons dans l'heure suivant l'étape d'enrichissement/d'incubation initiale de ≥ 18 heures. Le NeuMoDx GBS Assay rationalise et simplifie le processus de test en éliminant la nécessité d'une intervention de l'opérateur entre le moment où l'échantillon est placé dans le système et l'obtention des résultats.

PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Après la période d'incubation de 18 à 24 heures, le bouillon enrichi est utilisé pour la détection de la présence de GBS. Le NeuMoDx System mélange 25 µl du bouillon de Lim avec le NeuMoDx Lysis Buffer 4 et les réactifs d'extraction pour commencer le traitement. Le NeuMoDx System automatise et intègre l'extraction et la concentration de l'ADN, la préparation des réactifs, et l'amplification et la détection des acides nucléiques de la séquence visée à l'aide d'une PCR en temps réel. Le contrôle des processus de traitement de l'échantillon est également incorporé dans les étapes de traitement et d'amplification afin de contrôler la présence de substances inhibitrices potentielles ainsi que les échecs potentiels du système ou des réactifs. Aucune intervention de l'opérateur n'est requise une fois l'échantillon chargé sur le NeuMoDx System.

Les NeuMoDx Systems utilisent une combinaison de réactifs d'extraction, d'enzymes lytiques et de traitement thermique pour opérer la lyse cellulaire, l'extraction de l'ADN et la suppression des inhibiteurs. Les acides nucléiques libérés sont capturés par des particules paramagnétiques. Les particules, ainsi que les acides nucléiques qui sont fixés dessus, sont chargés dans la NeuMoDx Cartridge où les composants non fixés et dépourvus d'ADN sont éliminés à l'aide du NeuMoDx Wash Reagent, tandis que l'ADN fixé est élué à l'aide du NeuMoDx Release Reagent. Les NeuMoDx Systems utilisent alors l'ADN libéré pour réhydrater les réactifs exclusifs NeuDry™ contenant tous les éléments nécessaires à l'amplification de la cible spécifique à GBS. Les réactifs de PCR déshydratés contiennent également les éléments nécessaires pour amplifier une section de la séquence du contrôle des processus de traitement de l'échantillon afin de permettre l'amplification et la détection simultanées à la

fois des cibles et des séquences d'ADN de contrôle. Après reconstitution des réactifs de PCR NeuDry déshydratés, le NeuMoDx System transfère le mélange prêt pour la PCR dans une chambre de PCR (une par échantillon) de la NeuMoDx Cartridge. L'amplification et la détection des séquences d'ADN du contrôle et de la cible (si celle-ci est présente) se produisent dans la chambre de PCR. La cartouche et le compartiment sont conçus pour retenir l'amplicon suite à la PCR en temps réel, éliminant par là-même tout risque de contamination post-amplification.

Les cibles amplifiées sont détectées en temps réel grâce à des substances chimiques (sondes) impliquant une réaction d'hydrolyse (communément appelée « chimie TaqMan® »). Cela se produit à l'aide de molécules d'oligonucléotidique fluorogènes spécifiques aux amplicons pour leurs cibles respectives. Les sondes TaqMan comportent un fluorophore lié par liaison covalente à l'extrémité 5' de la sonde oligonucléotidique et un quencher à l'extrémité 3'. Tant que la sonde est intacte, le fluorophore et le quencher sont à proximité l'un de l'autre, ce qui entraîne l'extinction par le quencher de la fluorescence émise par le fluorophore par le biais du mécanisme de transfert d'énergie entre molécules fluorescentes (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Les sondes TaqMan sont conçues pour s'hybrider dans une région d'ADN amplifiée par un ensemble spécifique d'amorces. Au moment où la Taq ADN polymérase étend l'amorce et synthétise le nouveau brin, l'activité de l'exonucléase dans le sens 5' vers 3' de la Taq ADN polymérase dégrade la sonde qui s'est renaturée sur la matrice. La dégradation de la sonde libère le fluorophore et met fin à sa proximité avec le quencher, ce qui a pour effet de surmonter l'effet d'extinction causé par le mécanisme FRET et de permettre la détection de la fluorescence du fluorophore. Le signal de fluorescence qui en résulte détecté dans le thermocycleur de PCR quantitative est directement proportionnel au fluorophore libéré et il peut donc être corrélé à la quantité d'ADN cible présent.

Une sonde TaqMan marquée par un fluorophore (Excitation : 490 nm et Émission : 521 nm) à l'extrémité 5' et un quencher foncé à l'extrémité 3' sont utilisés pour détecter l'ADN de GBS. Pour la détection du contrôle des processus de traitement de l'échantillon, la sonde TaqMan est marquée par un autre colorant fluorescent (Excitation : 535 nm et Émission : 556 nm) à l'extrémité 5' et un quencher foncé à l'extrémité 3'. Le NeuMoDx System contrôle le signal fluorescent émis par les sondes TaqMan à la fin de chaque cycle d'amplification. Une fois l'amplification terminée, le NeuMoDx System analyse les données et communique un résultat définitif (POSITIVE [Positif] / NEGATIVE [Négatif] / INDETERMINATE [Indéterminé] / UNRESOLVED [Non résolu]).

RÉACTIFS/CONSOMMABLES

Matériel fourni

RÉF.	Contenu	Tests par unité	Tests par paquet
200400	NeuMoDx GBS Test Strip <i>Réactifs de PCR déshydratés contenant des amorces et des sondes TaqMan spécifiques à GBS et les amorces et la sonde TaqMan spécifiques au contrôle des processus de traitement de l'échantillon.</i>	16	96

Réactifs et consommables nécessaires, mais non fournis (disponibles séparément auprès de NeuMoDx)

RÉF.	Contenu
100200	NeuMoDx Extraction Plate <i>Particules paramagnétiques, enzyme lytique et contrôles des processus de traitement d'échantillons déshydratés</i>
400700	NeuMoDx Lysis Buffer 4
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
100100	NeuMoDx Cartridge
235903	Pointes Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) avec filtres
235905	Pointes Hamilton CO-RE / CO-RE II (1000 µl) avec filtres

Instruments requis

NeuMoDx 288 Molecular System [RÉF 500100] OU NeuMoDx 96 Molecular System [RÉF 500200]

⚠ AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Utilisation prévue pour le diagnostic *in vitro* avec les NeuMoDx Systems uniquement.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée.
- Ne pas utiliser les réactifs si le sceau de sécurité est brisé ou si l'emballage est endommagé à réception.
- Ne pas utiliser les réactifs si l'enveloppe protectrice est ouverte ou brisée à réception.
- Le volume d'échantillon minimal des aliquotes secondaires dépend de la taille du tube/porte-tubes à échantillon comme défini ci-dessous. Tout volume inférieur au minimum spécifié peut entraîner l'erreur suivante : « Quantity Not Sufficient » (Quantité insuffisante).

- Les tests effectués dans des conditions s'écartant des recommandations des CDC peuvent donner lieu à des résultats erronés lors de l'utilisation du NeuMoDx GBS Assay.
- Éviter toute contamination des réactifs par des microbes ou de la désoxyribonucléase (ADNase), à tout moment. L'utilisation de pipettes de transfert jetables stériles sans ADNase est recommandée. Utiliser une nouvelle pipette pour chaque échantillon.
- Afin d'éviter la contamination, ne pas manipuler ou démonter la NeuMoDx Cartridge après amplification. Ne récupérer en aucun cas les cartouches post-amplification dans le récipient à déchets. La NeuMoDx Cartridge est conçue de façon à empêcher la contamination.
- Dans le cas où des tests de PCR à tube ouvert sont également effectués par le laboratoire, des précautions doivent être prises pour s'assurer que la NeuMoDx GBS Test Strip, les réactifs supplémentaires nécessaires pour le test et le NeuMoDx System ne sont pas contaminés.
- Des gants en nitrile sans poudre propres doivent être enfilés avant la manipulation des réactifs et consommables NeuMoDx. Des précautions doivent être prises pour ne pas toucher la surface supérieure de la NeuMoDx Cartridge ou la surface d'étanchéité en aluminium de la NeuMoDx GBS Test Strip ou de la NeuMoDx Extraction Plate. La manipulation des produits doit se faire en touchant les surfaces latérales uniquement.
- Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles sur demande.
- Suivre les instructions indiquées dans les *Manuels d'utilisation des NeuMoDx 288/96 Molecular System* pour les solutions de nettoyage recommandées qui seront utilisées sur le système.
- Ne pas pipetter à la bouche. Ne pas fumer, manger ou boire dans les zones de manipulation des échantillons ou des réactifs du kit.
- Toujours manipuler les échantillons comme s'ils étaient infectieux et conformément aux procédures de sécurité des laboratoires, telles que mentionnées dans *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*⁸ (Sécurité biologique au sein des laboratoires d'analyses microbiologiques et biomédicales) et dans le document du CLSI M29-A4.⁹
- Jeter les réactifs inutilisés et les déchets conformément aux réglementations en vigueur (nationales, fédérales, locales, de la province et de l'État).

STOCKAGE, MANIPULATION ET STABILITÉ DU PRODUIT

- Les réactifs et consommables NeuMoDx sont stables dans leur emballage primaire entre 18 et 28 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit immédiatement visible.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption indiquée.
- Ne pas utiliser de produit de test si l'emballage primaire ou secondaire est visiblement dégradé.
- Une fois chargée, la NeuMoDx GBS Test Strip peut rester à bord du NeuMoDx System pendant 28 jours. Le logiciel suit la durée de vie restante des bandelettes de test chargées et l'indique à l'utilisateur en temps réel. Le système invite l'utilisateur à retirer toute bandelette de test dont l'utilisation a dépassé la durée autorisée.

PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

1. Les échantillons sur écouvillons vaginaux/rectaux prélevés sur des femmes enceintes aux fins d'enrichissement dans du bouillon de Lim doivent être prélevés, stockés et manipulés conformément aux procédures cliniques recommandées par les CDC.⁷
2. Les échantillons doivent être transportés jusqu'au laboratoire dans un milieu de transport non nutritif comme Amies ou Stuart's.
3. Si des écouvillons vaginaux et rectaux sont prélevés séparément sur la même patiente, les deux écouvillons peuvent être placés dans le milieu de transport dans un même récipient.
4. Étiqueter les échantillons clairement et indiquer que les échantillons sont destinés à un test de GBS ; l'étiquette doit également indiquer si un antibiogramme doit être réalisé.
5. Retirer les écouvillons du milieu de transport et les inoculer dans un milieu d'enrichissement sélectif comme du bouillon de Lim [bouillon Todd-Hewitt complété par de la colistine et de l'acide nalidixique].
6. Incuber le bouillon sélectif inoculé (bouillon de Lim) pendant 18 à 24 heures 37 °C à l'air ambiant ou sous atmosphère à 5 % de CO₂.
7. Passer à la section Préparation du test.

MODE D'EMPLOI

Préparation du test

1. Appliquer une étiquette code-barres pour échantillon sur un tube à échantillon compatible avec le NeuMoDx System.
2. Passer délicatement l'échantillon enrichi au vortex afin d'obtenir une distribution uniforme.
3. Si le dosage est effectué sur un échantillon secondaire, utiliser une pipette de transfert pour transférer ≥ 1 ml de bouillon de Lim dans le tube de prélèvement à code-barres. Utiliser une nouvelle pipette de transfert à chaque échantillon. Le tube secondaire doit satisfaire aux spécifications suivantes en matière de tubes à prélèvement compatibles avec le NeuMoDx System, en fonction du porte-tubes à prélèvement qui sera utilisé pour le traitement.
 - Porte-tubes à échantillon (32 tubes) : 11 – 14 mm de diamètre par 60 – 120 mm de hauteur
 - Porte-tubes à échantillon (24 tubes) : 14,5 – 18 mm de diamètre par 60 – 120 mm de hauteur
 - Porte-tubes à échantillon faible volume (32 tubes) : Tube de microcentrifugation de 1,5 ml à fond conique

Utilisation des NeuMoDx Systems

1. Remplir les porte-tubes du système comme il se doit avec les consommables suivants et utiliser l'écran tactile pour charger les porte-tubes dans le NeuMoDx System :
 - a. Pointes de pipette de 1 000 µl
 - b. Pointes de pipette de 300 µl
 - c. NeuMoDx Cartridge
 - d. NeuMoDx Extraction Plate
 - e. NeuMoDx GBS Test Strip
 - f. NeuMoDx Lysis Buffer 4 (**REMARQUE : retirer la feuille d'aluminium des récipients avant le chargement**)
2. Remplacer les NeuMoDx Wash et NeuMoDx Release Reagents, et vider les déchets d'amorçage comme il se doit.
3. Vider le récipient à déchets à risque biologique comme il se doit ou sur invite de la part du logiciel du NeuMoDx System.
4. Charger le ou les tubes à échantillon sur un porte-tubes à échantillon et veiller à ce que les bouchons aient été retirés de tous les tubes à échantillon.
5. Placer le porte-tubes à échantillons sur le plateau de chargement automatique et utiliser l'écran tactile pour charger le porte-tubes dans le NeuMoDx System. Ceci va lancer le traitement des tests.

LIMITATIONS

- La NeuMoDx GBS Test Strip peut uniquement être utilisée sur les NeuMoDx Systems.
- La performance du NeuMoDx GBS Assay a été établie avec des échantillons vaginaux/rectaux prélevés sur des patientes enceintes à l'aide d'écouvillons et transportés dans un milieu de transport non nutritif (Amies ou Stuart's par exemple), après enrichissement à l'aide d'un bouillon de Lim sélectif. La performance du NeuMoDx GBS Assay a été uniquement validée avec du bouillon de Lim. La performance n'a pas été validée avec d'autres milieux d'enrichissement sélectifs pour GBS.
- L'utilisation de la NeuMoDx GBS Assay avec d'autres sources cliniques n'a pas été évaluée et les caractéristiques de performance de ce test ne sont pas connues pour d'autres types d'échantillons.
- La détection de *Streptococcus B* étant dépendante du nombre d'organismes présents dans l'échantillon, l'obtention de résultats fiables est dépendante d'un prélèvement, d'une manipulation et d'un stockage appropriés des échantillons.
- La collecte, manipulation ou conservation inappropriée des échantillons, ainsi que les erreurs techniques ou les erreurs d'identification des échantillons, peut entraîner des résultats de tests erronés. En outre, des faux négatifs peuvent être obtenus lorsque le nombre d'organismes présents dans l'échantillon est en dessous de la sensibilité analytique du test.
- L'utilisation du test est restreinte au personnel formé à l'utilisation du NeuMoDx System.
- Si le contrôle des processus de traitement de l'échantillon ne donne pas lieu à une amplification et que le NeuMoDx GBS Assay produit un résultat Negative (Négatif), un résultat non valide (Indeterminate [Indéterminé] ou Unresolved [Non résolu]) sera rapporté et le test ne donnera pas lieu à une répétition.
- Un résultat de test positif n'indique pas nécessairement la présence d'organismes viables. Il présume néanmoins de la présence d'ADN de *Streptococcus B*.
- Des résultats négatifs n'excluent pas la présence de GBS, et le choix de traitement ou d'autres décisions relatives à la prise en charge des patientes ne doivent en aucun cas se fonder sur ces seuls résultats.
- La colonisation par GBS en cours de grossesse peut être intermittente, persistante ou transitoire. L'utilité clinique du dépistage du GBS diminue lorsque les tests sont effectués plus de cinq semaines avant l'accouchement.
- Le NeuMoDx GBS test ne fournit pas de résultats relatifs à la susceptibilité. Des isolats de culture sont nécessaires pour effectuer les tests de susceptibilité recommandés pour les femmes allergiques à la pénicilline.
- Bien qu'il n'existe pas de souches/d'isolats de GBS connus pour lesquels le gène *pcsB* est manquant, la présence d'une telle souche pourrait conduire à un résultat erroné dans le contexte d'une utilisation de la NeuMoDx GBS Test Strip.
- Des mutations survenant au niveau des régions de liaison de l'amorce/de la sonde peuvent affecter la détection avec la NeuMoDx GBS Test Strip.
- Les résultats du NeuMoDx GBS Assay doivent être utilisés en complément des observations cliniques et des autres informations à la disposition du médecin. Le test n'est pas destiné à différencier entre les personnes porteuses de *Streptococcus B* et celles atteintes de l'infection à streptocoques. Les résultats des tests peuvent être influencés par une antibiothérapie concomitante, car l'ADN de GBS peut continuer à être détecté suite à un antibiothérapie.
- Il est recommandé d'observer les bonnes pratiques de laboratoire, comme le changement des gants entre chaque manipulation d'échantillon patient, afin d'éviter la contamination des échantillons.

RÉSULTATS

Valeurs attendues — Prévalence

Environ 10 à 40 % des femmes enceintes sont colonisées par GBS. Le dépistage de culture de GBS dans le vagin et le rectum à un stade tardif de la grossesse (généralement 35–37 semaines) et au cours des soins en néonatal peuvent détecter les femmes susceptibles d'être colonisées par GBS au moment de l'accouchement. Au cours de l'étude de comparaison des méthodes cliniques, 1 193 échantillons de bouillon de Lim résiduels ont été recrutés et testés dans trois laboratoires implantés dans des zones géographiques diversifiées des États-Unis. La prévalence globale de GBS relevée dans l'étude, sur la base des résultats d'identification de culture produits selon le test de référence (« gold standard ») fourni pour tous les échantillons inclus, a été de 21,9 % (261/1 193) avec un intervalle de confiance à 95 % de (19,6 %–24,3 %), comme calculé avec la méthode des intervalles de confiance à 95 % conformément à la recommandation du CLSI EP12-A2¹⁰. Les taux de prévalence réelle peuvent varier en fonction des lieux géographiques et selon les populations de patientes.

NeuMoDx 288/96 Molecular Systems

Les résultats disponibles peuvent être consultés ou imprimés à partir de l'onglet « Results » (Résultats) de la fenêtre Results (Résultats) sur l'écran tactile du NeuMoDx System.

Les résultats des tests ont été générés automatiquement par le logiciel du NeuMoDx System. Un résultat peut être rapporté Negative (Négatif), Positive (Positif), Indeterminate (Indéterminé) ou Unresolved (Non résolu) sur la base du statut d'amplification de la cible et du contrôle des processus de traitement de l'échantillon. Les résultats sont rapportés en fonction de l'algorithme de décision figurant dans le *tableau 1*.

Tableau 1 : Algorithme décisionnel du NeuMoDx GBS Assay

Résultat	C _t GBS	C _t Contrôle des processus de traitement de l'échantillon (SPC1)
Positive (Positif)	9 < C _t < 37 et EP > 3 000	N/A (S.o.)
Negative (Négatif)	N/A (S.O.) OU C _t < 9 OU > 37	25 < C _t < 35 Et EP > 2 000
Indeterminate (Indéterminé)	N/A (S.o.) SYSTEM ERROR NOTED (ERREUR SYSTÈME REPÉRÉE)	N/A (S.o.) SYSTEM ERROR NOTED (ERREUR SYSTÈME REPÉRÉE)
Unresolved (Non résolu)	Unresolved (Non détecté)	Unresolved (Non détecté)

EP = End Point Fluorescence (Fluorescence au point final) (après correction de la ligne de base)

Contrôle de la qualité

Les réglementations Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) spécifient que le laboratoire a la responsabilité d'exécuter des procédures de contrôle permettant de contrôler l'exactitude et la précision de l'ensemble du processus analytique, et qu'il doit établir le nombre, le type et la fréquence des matériaux de contrôle utilisés pour le test en respectant les spécifications de performances vérifiées pour un système de test homologué ou accepté par la FDA et non modifié (42 CFR Part 493.1256).

1. NeuMoDx Molecular, Inc. ne fournit pas de matériaux de contrôle externes (dosages). Des contrôles appropriés doivent être choisis et validés par le laboratoire.

Contrôle positif recommandé : 10 µl de contrôle « AcroMetrix™ GBS Positive Control » (Thermo Fisher Scientific RÉF 960041) dilué dans 1 ml de bouillon de Lim.

Contrôle négatif recommandé : 1 ml de bouillon de Lim sans inoculation.

2. Les amorces et la sonde spécifiques au contrôle des processus de traitement de l'échantillon 1 (SPC1) sont incluses dans chaque NeuMoDx GBS Test Strip. Ce contrôle des processus de traitement de l'échantillon permet au système de contrôler l'efficacité des processus d'extraction de l'ADN et d'amplification par PCR.
3. Un résultat de test positif rapporté pour un échantillon de contrôle négatif indique un problème de contamination de l'échantillon. Se reporter aux *Manuels d'utilisation des NeuMoDx 288/96 Molecular System* pour connaître les conseils de résolution des problèmes.
4. Un résultat Negative (Négatif) rapporté pour un échantillon de contrôle positif peut indiquer qu'il y a un problème avec un réactif ou un instrument.

Résultats non valides

Si un test effectué sur le NeuMoDx System ne parvient pas à produire un résultat valide, ce résultat sera rapporté comme étant Indeterminate (Indéterminé) ou Unresolved (Non résolu) selon le type d'erreur qui s'est produit.

Un résultat Indeterminate (Indéterminé) sera rapporté si une erreur système est détectée pendant le traitement de l'échantillon. Dans le cas où un résultat Indeterminate (IND) (Indéterminé) est rapporté, une répétition du test est recommandée.

Un résultat Unresolved (Non résolu) sera rapporté si aucune cible n'est détectée et qu'il n'y a pas d'amplification du contrôle des processus de traitement de l'échantillon, ce qui est indicatif d'une possible défaillance des réactifs ou de la présence de substances inhibitrices. Dans le cas où un résultat Unresolved (UNR) (Non résolu) est rapporté, une répétition du test est recommandée.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Performances cliniques

Les caractéristiques de performance ont été déterminées à l'aide d'une étude de comparaison des méthodes cliniques prospective effectuée dans trois (3) laboratoires implantés dans des zones géographiques différentes afin d'évaluer la performance du NeuMoDx GBS Assay lorsqu'il est exécuté sur le NeuMoDx 288 Molecular System, comparée aux méthodes de culture classiques recommandées par les Centers for Disease Control (CDC) américains pour identifier GBS à partir de sous-cultures enrichies dans un bouillon de Lim. Les échantillons éligibles au recrutement ont été recueillis sur des femmes enceintes par des prestataires de soins de santé dans le cadre du dépistage systématique recommandé par les CDC entre la 35^e et la 37^e semaine de grossesse.

Les échantillons sur écouvillons vaginaux/rectaux prélevés ont été transportés jusqu'aux différents laboratoires dans un milieu de transport approprié, avant d'être inoculés dans un milieu d'enrichissement sélectif (bouillon de Lim) par le personnel du laboratoire en préparation d'une période d'incubation de 18 à 24 heures. Suite à la période d'incubation et aux tests de routine, les échantillons résiduels de bouillon de Lim ont fait l'objet d'une sous-culture sur une plaque de gélose avec du sang de mouton, comme recommandé par les CDC dans leurs procédures publiées en 2010 concernant le traitement des échantillons cliniques aux fins de culture de GBS. Les plaques de gélose ont été incubées pendant 48 heures avant d'être inspectées pour repérer la présence d'organismes évocateurs de GBS. Les colonies suspectées ont fait l'objet d'une coloration de Gram et les colonies de cocci à Gram positif ont été testées pour identifier la production de catalase ; les colonies de cocci à Gram positif qui ont testé négatives pour la production de catalase ont été retravaillées pour une identification plus poussée grâce à un test d'agglutination au latex des groupements de streptocoques pour déterminer la présence de GBS. Les performances cliniques sont basées sur 1 193 échantillons avec des résultats complets, valides et conformes inclus dans l'étude et résumés dans les *tableau 2* et *tableau 3* ci-dessous. Les limites inférieure et supérieure de l'intervalle de confiance (IC) à 95 % ont été calculées à l'aide de la méthode des intervalles de confiance à 95 %.

Tableau 2 : Synthèse des performances cliniques du NeuMoDx GBS Assay

Résumé du site clinique		Méthode de culture / de référence		
		Positive (Positif)	Negative (Négatif)	Total
NeuMoDx GBS	Positive (Positif)	253	37	290
	Negative (Négatif)	8	895	903
	<i>Total</i>	261	932	1193

Sensibilité = 96,9 %
IC à 95 % (94,1–98,4)

Spécificité = 96,0 %
IC à 95 % (94,6 – 97,1)

Tableau 3 : Performances cliniques spécifiques aux sites du NeuMoDx GBS Assay

Site	n	Sensibilité (IC à 95 %) ^a	Spécificité (IC à 95 %) ^a	Prévalence ^b (IC à 95 %) ^a
A	351	92,4 % 73/79 (84,4-96,5)	96,7 % 263/272 (93,8-98,3)	22,5 % 79/351 (15,1-22,2)
B	400	98,4 % 62/63 (91,5-99,7)	94,4 % 318/337 (91,4-96,4)	15,8 % 63/400 (10,8-17,0)
C	442	99,2 % 118/119 (95,4-99,9)	97,2 % 314/323 (94,8-98,5)	26,9 % 119/442 (18,2-24,7)
Total	1193	96,9 % 253/261 (94,1-98,4)	96,0 % 895/932 (94,6-97,1)	21,9 % 261/1193 (19,6-24,3)

^a Les limites inférieure et supérieure de l'intervalle de confiance (IC) à 95 % présentés ont été calculées à l'aide de la méthode des intervalles de confiance à 95 %.

^b Les calculs de prévalence se fondent sur les résultats des méthodes de référence obtenus en suivant les procédures recommandées par les CDC concernant le traitement des échantillons cliniques pour la culture de *Streptococcus B*. (Publication : 2010)

Des tests internes supplémentaires portant sur 100 échantillons cliniques ont été effectués pour démontrer que la sensibilité et la spécificité du NeuMoDx GBS Assay tel qu'il est exécuté sur le NeuMoDx 96 Molecular System sont équivalentes aux performances établies précédemment sur le NeuMoDx 288 Molecular System au cours de l'étude clinique.

Sensibilité

La sensibilité analytique du NeuMoDx GBS Assay avec la NeuMoDx GBS Test Strip a été caractérisée en testant cinq concentrations différentes de GBS (ATCC BAA-611 sérotype V) préparées à partir de cinq pools cliniques négatifs indépendants sur le NeuMoDx 288 Molecular System. L'étude a été réalisée au cours de journées non consécutives sur plusieurs systèmes, chacun des systèmes testant dix réplicats à chacune des concentrations sur une journée. Un lot unique de chacun des éléments suivants : NeuMoDx GBS Test Strip, NeuMoDx Extraction Plate et NeuMoDx Lysis Buffer 4 a été testé sur chaque système. Les taux de détection sont représentés dans le *tableau 4*. La limite de détection (LoD) a été déterminée à 500 UFC/ml et a été confirmée par des tests sur le NeuMoDx 96 Molecular System en utilisant la méthode du taux de succès pour confirmer ≥ 95 % de détection au niveau de la LoD.

Tableau 4 : Taux de détection en pourcentage positif pour les échantillons utilisés pour déterminer la LoD du NeuMoDx GBS Assay

GBS UFC/ml	Nombre de tests valides	Nombre de positifs	Nombre de négatifs	Taux de détection
1 000	60	60	0	100 %
500*	60	60	0	100 %
200	60	53	7	88 %
100	60	35	25	58 %
0	60	0	60	0 %

*équivalent à 20 UFC/test

Le NeuMoDx GBS Assay tel qu'il est exécuté avec la NeuMoDx GBS Test Strip a détecté tous les principaux sérotypes du groupe B de *Streptococcus*, et notamment les quatre les plus pertinents sur le plan clinique. Les douze souches différentes de bactéries GBS englobant les sérotypes testés avec la NeuMoDx GBS Test Strip sont représentées au *tableau 5*.

Tableau 5 : Sérotypes GBS testés

Sérotype GBS	Souche GBS	ATCC/BEI#	Concentration (UFC/ml) avec 100 % de détection
Ia	A909	ATCC: BAA-1138	1500
Ib	H36b	ATCC: BAA-1174	1000
II	MNZ933	BEI: NR-43896	400
III	MNZ938	BEI: NR-43897	400
Ic	CDC SS700	ATCC: 27591	800
IV	2011201884	ATCC: BAA-2673	800
VI	2010228816	ATCC: BAA-2671	800
VII	4832-06	ATCC: BAA-2670	800
VIII	5030-08	ATCC: BAA-2669	800
IX	7509-07	ATCC: BAA-2668	800
Non hémolytique	NCTC 8181	ATCC: 13813	800
Isolat clinique TX 2012	SGBS030	BEI: NR-44144	800

Spécificité analytique et réactivité croisée

La spécificité analytique a été démontrée par le dépistage de 136 organismes communs aux tractus urogénital et digestif, ainsi que d'espèces phylogénétiquement apparentées au GBS pour la réactivité croisée sur le NeuMoDx 288 Molecular System à l'aide de la NeuMoDx GBS Test Strip. Les organismes ont été préparés en groupes de 5 à 6 et testés à une forte concentration (bactéries : $6-9 \times 10^6$ UFC/ml ; virus : $1 \times 10^6-1 \times 10^7$ copies/ml). Aucun des organismes étudiés n'a démontré de réactivité croisée lors de l'exécution du NeuMoDx GBS Assay. Les organismes testés sont indiqués dans le *tableau 6*.

Tableau 6 : Agents pathogènes utilisés pour démontrer la spécificité analytique

Bactéries, levures et parasites		
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Salmonella enterica</i> (serovar Minnesota)	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Candida glabrata</i>
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Achromobacter xerosis</i>
<i>Moraxella</i> (Branhamella) <i>catarrhalis</i>	<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Rhodospirillum rubrum</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Enterococcus avium</i>	<i>Neisseria subflava</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Streptococcus mitis</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Gemella haemolysans</i>	<i>Corynebacterium xerosis</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Kingella kingae</i>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>
<i>Morganella morganii</i>	<i>Rahnella aquatilis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Moraxella lacunata</i>
<i>Proteus vulgaris</i>	<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Streptomyces griseus</i>
<i>Salmonella enterica</i> (serovar Typhi)	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Brevibacterium linens</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Lactobacillus brevis</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Deinococcus radiodurans</i>	<i>Dexia gummosa</i>
<i>Providencia stuartii</i>	<i>Pseudomonas protegens</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Corynebacterium</i> , strain HFH0082
<i>Aerococcus viridans</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Salmonella enterica</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	<i>Streptococcus canis</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Kingella denitrificans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Neisseria perflava</i>	<i>Chromobacterium violaceum</i>	<i>Streptococcus suis</i>
<i>Moraxella osloensis</i>	<i>Candida krusei</i>	Virus
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero C	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	CMV*
<i>Neisseria meningitidis</i> Sero A	<i>Corynebacterium urealyticum</i>	EBV (HHV-4)
<i>Streptococcus anginosus</i> (Grp C)	MRSA	HSV1*
<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i>	HSV2*
<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>Bifidobacterium breve</i>	VZV (HHV 3)*
<i>Neisseria meningitidis</i> M158 groupe D	<i>Mobiluncus mulieris</i>	HPV-16*
<i>Neisseria flavescens</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	Virus JC*
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>	Virus BK
<i>Lactobacillus casei</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	HHV-6A
<i>Lactobacillus lactis</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>	HHV-6B
<i>Haemophilus influenzae</i> type B	<i>Mycoplasma genitalium</i>	HHV-7
<i>Salmonella newport</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>	HHV-8
<i>Shigella flexneri</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	
<i>Shigella sonnei</i>	<i>Enterococcus dispar</i>	
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	
<i>Enterococcus</i> sp. (ATCC® 202155™)	<i>Chlamydia pneumoniae</i> *	

* Testé à 10 ng/ml

Substances interférentes — Organismes commensaux

Le NeuMoDx GBS Assay a été testé pour déterminer les interférences potentielles en présence d'organismes non cibles (cohabitant dans le tractus urogénital), en évaluant la performance du dosage à de faibles concentrations de GBS sur le NeuMoDx 288 Molecular System. Le panel de 136 organismes [Tableau 6] utilisé pour évaluer la réactivité croisée a également été utilisé pour cette étude. Les organismes ont été regroupés en groupes de 5 à 6 dans du bouillon de Lim négatif clinique dans lequel a été introduit du GBS de culture à 1 200 UFC/ml. Les tests ont validé la détection de *streptococcus B* dans tous les groupes testés. Aucune interférence n'a été observée avec les organismes commensaux étudiés.

Substances endogènes et exogènes rencontrées dans les échantillons cliniques de GBS

La performance du NeuMoDx GBS Assay a été évaluée sur le NeuMoDx 288 Molecular System en présence de substances interférentes endogènes et exogènes qui peuvent généralement être rencontrées dans les échantillons cliniques de GBS. Chacune des substances endogènes et exogènes indiquées ci-dessous dans le *tableau 7* a été ajoutée à des échantillons de bouillon de Lim négatifs cliniques regroupés contenant GBS à hauteur de 1 200 UFC/ml ou 4 000 UFC/ml. Les 20 substances endogènes et les 6 substances exogènes qui ont été testées pour déterminer leur potentiel d'interférence avec la NeuMoDx GBS Test Strip n'ont montré aucun effet négatif sur le pouvoir de détection de GBS, quelle que soit la concentration testée, ce qui vient étayer davantage l'intérêt du NeuMoDx GBS Assay.

Tableau 7 : Agents interférents exogènes et endogènes testés

Substances exogènes			Substances endogènes
Crème Monistat®	Suppositoires Dulcolax®	Lubrifiant K-Y™ Jelly	Liquide amniotique humain
Yeast Gard Advanced™ (Douche vaginale)	Lavement Fleet®	Gel McKesson	Sang total humain
Supplément de fibres Metamucil®	Crème Preparation H®	Mousse contraceptive	Urine humaine
Ex-lax® (pépites de chocolat)	Poudre Vagisil™	Lotion hydratante	Échantillon de selles humaines
Milk of Magnesia Phillips'®	Suppositoires Norforms®	Huile corporelle Neutrogena®	Mucus
Pepto-Bismol™	Déodorant en spray FDS®	Poudre Gold Bond®	ADN génomique humain
Kaopectate®	Spray pour les fesses New Mama		

Précision

Des tests qualitatifs ont été exécutés sur le NeuMoDx 288 Molecular System avec la NeuMoDx GBS Test Strip. Deux (2) séries ont été effectuées par jour sur 3 systèmes sur une période de 12 jours non consécutifs. Ces tests de précision intralaboratoire ont fait intervenir 2 lots de réactifs et ont été effectués par 2 opérateurs. Une série était définie comme étant trois réplicats testés pour chacune des cinq concentrations différentes indiquées dans le *tableau 8* (True Negative [Négatif avéré], Low Negative [Négatif faible], Moderate Negative [Négatif modéré], Low Positive [Positif faible] et Moderate Positive [Positif modéré]) pour un total de 15 échantillons par série et par système. Les échantillons ont été préparés en introduisant du GBS de culture dans du bouillon de Lim résiduel clinique négatif ayant fait l'objet d'un dépistage et d'un regroupement. Pour chaque série effectuée, un contrôle externe positif et un contrôle externe négatif étaient traités en plus des 15 échantillons. Un total de 72 séries d'échantillons (1 224 tests) a été exécuté dans le cadre de cette étude, en incluant les contrôles externes. Le *tableau 9* montre une comparaison entre les instruments. Le *tableau 10* montre la précision entre les opérateurs.

Tableau 8 : Panel d'étude de la précision intralaboratoire

Élément du panel	Concentration testée	GBS (UFC/ml)
Moderate Positive (Positif modéré) (PM)	3 à 4 x LoD	1600
Low Positive (Positif faible) (PF)	1 à 2 x LoD	600
Moderate Negative (NM) (Négatif modéré) (NM)	Dilution à > 10 fois la LoD	40
Low Negative (Négatif faible) (NF)	Dilution à > 100 fois la LoD	4
True (Blank) Negative (TN) (Vrai [Vide] négatif)	0	0

Tableau 9 : Résultats qualitatifs issus de l'étude de précision intralaboratoire (entre différents instruments)

Concentration	Instrument 1	Instrument 2	Instrument 3	Global
	% positif	% positif	% positif	% positif
PM	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (216/216)
PF	100 % (72/72)	95,8 % (69/72)	97,2 % (70/72)	97,7 % (211/216)
	Pourcentage négatif	Pourcentage négatif	Pourcentage négatif	Pourcentage négatif
NM	77,7 % (56/72)	86,1 % (62/72)	83,3 % (60/72)	82 % (178/216)
NF	97,2 % (70/72)	100 % (72/72)	98,6 % (71/72)	98,6 % (213/216)
TN	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (72/72)	100 % (216/216)

Tableau 10 : Analyse des paramètres de GBS quantitatifs à partir de l'étude de la précision intralaboratoire (entre différents opérateurs)

Concentration	Premier opérateur					Deuxième opérateur					Ensemble de données combinées				
	Pos. détecté/T total	% Positif	Ct moy.	Écart type	% CV*	Pos. détecté/T total	% Positif	Ct moy.	Écart type	% CV	Pos. détecté/T total	% Positif	Ct moy.	Écart type	% CV
PM	108/108	100,0 %	31,61	0,54	1,7 %	108/108	100,0 %	32,22	0,51	1,6 %	216/216	100,0 %	31,91	0,61	1,9 %
PF	106/108	98,1 %	34,16	0,68	2,0 %	105/108	97,2 %	34,39	0,72	2,1 %	211/216	97,7 %	34,27	0,71	2,1 %
NM	20/108	18,5 %	35,00	0,53	1,5 %	18/108	16,7 %	35,28	0,40	1,1 %	38/216	17,6 %	35,10	0,49	1,4 %
NF	2/108	1,9 %	35,49	0,12	0,3 %	1/108	0,9 %	35,03	N/A (S.o.)		3/216	1,4 %	35,33	0,28	0,8 %
TN	0/108	0,0 %	N/A (S.o.)			0/108	0,0 %	N/A (S.o.)			0/216	0,0 %	N/A (S.o.)		

* CV : Le coefficient de variation, 100 x écart type/Ct moy.

Reproductibilité interlaboratoire

La reproductibilité du NeuMoDx GBS Assay exécuté sur le NeuMoDx 288 Molecular System avec la NeuMoDx GBS Test Strip a été évaluée sur 3 sites de test différents en testant 5 réplicats d'un panel à 4 membres sur 5 journées, ce qui a produit un total de 75 réplicats par membre du panel. Les échantillons du panel ont été préparés en introduisant du GBS de culture dans du bouillon de Lim clinique négatif ayant fait l'objet d'un regroupement afin de créer des membres Négatif faible, Positif faible et Positif modéré, tandis que les échantillons Vrai négatif (blancs) ne contenaient pas de GBS. Les concentrations des membres du panel correspondent aux mêmes concentrations que celles indiquées dans le *tableau 8* ci-devant utilisées pour déterminer la Précision (moins l'échantillon Négatif modéré). Un contrôle externe positif et un contrôle externe négatif ont également été traités à chaque jour de test.

Au total, 4 résultats non valides ont été obtenus au cours de l'étude de reproductibilité : un réplicat de chacune des 4 concentrations a donné un résultat « Indéterminé » (Indéterminé) et tous ces résultats se sont produits au cours de la même journée de test (Jour 2) sur le site B. À répétition, 2 des 4 échantillons ont produit un résultat correct et valide ; les deux échantillons restants ont produit un résultat « Indéterminé » (Indéterminé) une deuxième fois, avant de finalement produire un résultat correct et valide. Le pourcentage de concordance avec le résultat attendu pour les membres du panel sur tous les sites est présenté dans le *tableau 11* ci-dessous.

Tableau 11 : Synthèse de la performance de reproductibilité interlaboratoire du NeuMoDx GBS Assay

Concentration de l'élément du panel	Site 1 (A)	Site 2 (B)	Site 3 (D)	Concordance totale (IC à 95 %) ^a
Moderate Positive (Positif modéré)	25/25	25/25	25/25	100 % (75/75) (95,1 – 100)
Low Positive (Positif faible)	24/25	25/25	24/25	97,3 % (73/75) (90,8 – 99,3)
Low Negative (Négatif faible)	25/25	25/25	24/25 ^b	98,7 % (74/75) (92,8 – 99,8)
Blank Negative (Négatif vrai)	25/25	25/25	25/25	100 % (75/75) (95,1 – 100)

^a Les limites inférieure et supérieure de l'intervalle de confiance (IC) à 95 % présentés ont été calculées à l'aide de la méthode des intervalles de confiance à 95 %.

^b On peut s'attendre à ce que la concentration de l'échantillon « Négatif faible » soit détectée comme étant positive ~5 % du temps.

Contamination par transfert et contamination croisée

Des études sur le potentiel de contamination d'échantillon par transfert et de contamination croisée ont été effectuées sur le NeuMoDx 288 Molecular System avec la NeuMoDx GBS Test Strip. L'étude en deux parties a d'abord évalué l'impact sur les échantillons négatifs de GBS en les intercalant avec des échantillons contenant une cible élevée de GBS (à 1x10⁷ UFC/ml). Les échantillons positifs et négatifs ont été chargés de manière à ce que chaque échantillon négatif soit adjacent à un échantillon positif élevé. La seconde partie de l'étude a consisté à traiter tous les échantillons négatifs immédiatement après une série qui avait traité tous les échantillons à forte concentration de GBS. Aucune contamination n'a été observée dans les échantillons négatifs qui avaient été intégrés à des échantillons à forte concentration, ou dans les échantillons négatifs qui avaient fait suite à des échantillons à forte concentration de GBS. Ceci apporte la démonstration de l'absence de toute contamination croisée et/ou contamination par transfert.

Efficacité du contrôle

L'efficacité du contrôle des processus de traitement de l'échantillon inclus dans la NeuMoDx GBS Test Strip a été évaluée sur le NeuMoDx 288 Molecular System afin de rapporter toute défaillance dans les étapes de traitement ou tout effet inhibiteur affectant la performance du NeuMoDx GBS Assay. Les conditions testées sont représentatives des défaillances affectant les étapes de traitement critiques susceptibles de se produire lors du traitement de l'échantillon et qui *pourraient ne pas être détectées* par les capteurs embarqués chargés de contrôler la performance du NeuMoDx System. Ceci a été évalué en simulant d'une part l'échec des différentes étapes du processus de traitement des échantillons afin de reproduire une erreur système potentielle et en introduisant d'autre part un inhibiteur connu dans l'échantillon afin d'observer l'effet d'une atténuation insuffisante de l'inhibiteur sur la détection du contrôle des processus de traitement des échantillons (voir le *tableau 12*). Dans les cas où les erreurs de traitement n'ont pas eu d'effet négatif sur la performance du contrôle des processus de traitement de l'échantillon (NO WASH/NO WASH BLOWOUT [Pas de solution de lavage/Pas d'expulsion de la solution de lavage]), le test a été répété avec des échantillons positifs à GBS (à 400 UFC/ml) afin de confirmer que les erreurs de traitement n'avaient également AUCUN effet négatif sur la détection de la cible GBS. Le *tableau 12* résume les résultats du test de vérification de l'efficacité du contrôle.

Tableau 12 : Synthèse des données sur l'efficacité du contrôle

Condition	Résultat attendu	Résultat observé
Normal Processing (Traitement normal)	Negative (Négatif)	Negative (Négatif)
Normal Processing + Inhibitor (Traitement normal + Inhibiteur)	Unresolved (Non résolu)	Unresolved (Non résolu)
No Wash Reagent (Pas de Wash Reagent)	Unresolved (Non résolu) ou Negative (Négatif)	Negative (Négatif)
No Wash Blowout (Pas d'expulsion de la solution de lavage)	Unresolved (Non résolu) ou Negative (Négatif)	Negative (Négatif)
No Release Reagent (Pas de Release Reagent)	Indeterminate (Indéterminé)	Indeterminate (Indéterminé)
No PCR Master Mix Reagents (Pas de réactifs du Master Mix PCR)	Indeterminate (Indéterminé)	Indeterminate (Indéterminé)

Stabilité embarquée des échantillons

Des échantillons prélevés à des dates différentes ont été traités sur le NeuMoDx 288 Molecular System à « Time 0 » (Instant 0) et à « Time 24 » (Instant 24) afin de déterminer la stabilité de l'échantillon à bord du système pour le NeuMoDx GBS Assay. Des échantillons cliniques positifs et négatifs à GBS ont été traités une première fois, puis laissés sur la table de travail du système pendant 24 heures avant d'être traités une nouvelle fois. Une concordance de 100 % a été observée entre les résultats obtenus lors du test initial (Instant 0) et ceux obtenus 24 heures plus tard (Instant 24) pour les 23 échantillons négatifs à GBS testés [Tableau 13]. Après 24 heures, tous les échantillons positifs sauf un ont généré un résultat positif, soit une concordance de 95,8 % avec le résultat attendu.

Tableau 13 : Synthèse des données sur la stabilité embarquée des échantillons

		Échantillons positifs confirmés (Échantillons A)		Échantillons négatifs confirmés (Échantillons B)	
		Nbre Positif	Nbre Négatif	Nbre Positif	Nbre Négatif
Test 1	Time 0 (Instant 0)	23	0	0	23
Test 2	Time 24 (Instant 0)	22	1*	0	23
% de concordance		95,8		100	

* Un échantillon avait été initialement identifié comme étant positif à l'Instant 0 ; des tests plus poussés ont montré que cet échantillon avait été faussement identifié comme étant positif, en raison d'une faible concentration d'ADN de GBS ou de matériel cellulaire non viable, car aucune croissance de GBS dans la culture n'a été rapportée par le laboratoire de référence.

RÉFÉRENCES


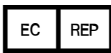








- Zangwill KM, Schuchat A, Wenger JD. Group B streptococcal disease in the United States, 1990: report from a multistate active surveillance system. In Surveillance Summaries, November 20, 1992. MMWR 1992; 41:25–32.
- Schrag SJ, Zywicki S, Farley MM, Reingold AL, Harrison LH, Lefkowitz LB, et al. Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. N Engl J Med 2000; 342:15–20.
- CDC. Perinatal group B streptococcal disease after universal screening recommendations—United States, 2003–2005. MMWR 2007;56: 701–5.
- Phares CR, Lynfield R, Farley MM, Mohle-Boetani J, Harrison LH, Petit S, et al. Epidemiology of invasive group B streptococcal disease in the United States, 1999–2005. JAMA 2008; 299:2056–65.
- CDC. Trends in perinatal group B streptococcal disease—United States, 2000–2006. MMWR 2009; 58:109–12.
- Active Bacterial Core Surveillance (ABCs) Report Emerging Infections Program Network Group B Streptococcus, 2014
- Centers for Disease Control and Prevention. Prevention of Perinatal Group B Streptococcal Disease: Revised Guideline from CDC. Morbidity and Mortality Weekly Report, November 19, 2010;59(No. RR-10);1-23
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Richmond JY and McKinney RW, Fifth edition (2009). HHS Publication number (CDC) 21-1112.
- Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.
- Clinical And Laboratory Standards Institute (CLSI). User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline – Second Edition. CLSI document EP12-A2; 2008.

MARQUES COMMERCIALES

NeuMoDx[™] et NeuDry[™] sont des marques commerciales de NeuMoDx Molecular, Inc.
TaqMan[®] est une marque déposée de Roche Molecular Systems, Inc.
AcroMetrix[™] est une marque commerciale Thermo Fisher Scientific.
Monistat[®] est une marque déposée de Pfizer, Inc.
Yeast Gard Advanced[™] est une marque déposée de Lake Consumer Products, Inc.
Metamucil[®] est une marque déposée de Procter & Gamble.
Ex-lax[®] est une marque déposée de GSK plc.
Phillips'[®] est une marque déposée de Bayer.
Kaopectate[®] est une marque déposée de SANOFI.
Neutrogena[®] est une marque déposée de Johnson & Johnson Consumer, Inc.

Dulcolax[®] est une marque déposée de SANOFI.
Fleet[®] est une marque déposée de C.B. Fleet Company.
Preparation H[®] est une marque déposée de Pfizer, Inc.
Vagisil[™] est une marque commerciale de COMBE, Inc.
Norforms[®] est une marque déposée de C.B. Fleet Company.
FDS[®] est une marque déposée de WellSpring Pharmaceutical Corp.
K-Y[™] Jelly est une marque commerciale de Reckitt Benckiser Group.
Pepto-Bismol[™] est une marque déposée de Procter & Gamble.
Gold Bond[®] est une marque déposée de SANOFI.

SYMBOLES

SYMBOLE	SIGNIFICATION
R only	Sur ordonnance uniquement
	Fabricant
IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Représentant autorisé au sein de la Communauté européenne
REF	Numéro de référence
LOT	Code de lot
	À utiliser avant
	Limite de température
	Limites d'humidité
	Ne pas réutiliser
	Contient des éléments suffisants pour <n> tests
	Consulter le mode d'emploi
	Attention
	Risques biologiques
CE	Marquage CE



NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

Promoteur (AUS) :
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australie



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands



Support technique / Pour obtenir de l'aide : support@qiagen.com

Brevet : www.neumodx.com/patents