



Mycobacterium tuberculosis

Complex OSR for BD MAX™

REF 400-010-W-MAX

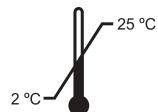


24 réactions

Mode d'emploi

Pour le diagnostic *in vitro*

À utiliser avec le système BD MAX™



BioGX
1500 First Avenue, North, L136
Birmingham, AL 35203, USA
Phone: +1.205.250.8055
Fax: +1.205.449.8055



BioGX BV
Science Park 408
1098 XH Amsterdam,
The Netherlands
Phone: +31.20.893.4261
Fax: +31.20.240.9149



Straker Translations
Level 2, 49 Parkway drive, Rosedale
Auckland, 0632
New-Zealand
Phone: +64 9 801 0648

NOM COMMERCIAL

BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex – OSR for BD MAX™

UTILISATION PRÉVUE

Le BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex – OSR for BD MAX™ est un réactif de test de diagnostic *in vitro* automatisé. Le réactif en système ouvert (OSR) est utilisé pour la détection qualitative multiplex de l'ADN du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (gène *IS6110*¹) et d'un témoin du traitement des échantillons d'ADN (SPC) à partir des échantillons suivants provenant de personnes présentant un risque de présence de *Mycobacterium tuberculosis* :

- Échantillons d'expectoration prétraités
- Échantillons de lavage broncho-alvéolaire (LBA)

Le test ne peut être réalisé que sur l'instrument automatisé d'extraction d'acide nucléique et de PCR en temps réel BD MAX™ en utilisant la bandelette d'extraction BD MAX™ ExK™ DNA-1 et le fichier BioGX UDP qui l'accompagne.

Le réactif d'extraction BD MAX™ contient un ADN témoin du traitement des échantillons (SPC), dont la présence est également détectée par le test multiplex BioGX. Ce SPC fait office de témoin pour l'extraction des acides nucléiques de l'échantillon et de témoin d'amplification interne. L'ajout externe de SPC par l'utilisateur n'est pas nécessaire.

Le test PCR multiplex est fourni dans un format lyophilisé Sample-Ready™ exclusif à BioGX, scellé dans un tube BD MAX™. Chaque tube contient tous les composants PCR tels que les amorces, les sondes, les enzymes, les dNTP et les tampons nécessaires à l'analyse d'un échantillon par PCR en temps réel.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La tuberculose (TB) est causée par une bactérie appelée *Mycobacterium tuberculosis*. La bactérie s'attaque généralement aux poumons, mais *Mycobacterium tuberculosis* peut s'attaquer à n'importe quelle partie du corps, comme les reins, la colonne vertébrale et le cerveau. Les personnes infectées par *Mycobacterium tuberculosis* ne tombent pas toutes malades. Par conséquent, il existe deux états liés à la tuberculose : l'infection tuberculeuse latente (ITL) et la maladie tuberculeuse. Si elle n'est pas traitée correctement, la maladie tuberculeuse peut être mortelle.

Certaines personnes développent la maladie peu après avoir été infectées (dans les semaines qui suivent) avant que leur système immunitaire ne puisse combattre la bactérie de la tuberculose. D'autres personnes peuvent tomber malades des années plus tard, lorsque leur système immunitaire s'affaiblit pour une autre raison. Dans l'ensemble, environ 5 à 10 % des personnes infectées qui ne reçoivent pas de traitement pour une infection tuberculeuse latente développeront la maladie tuberculeuse à un moment donné de leur vie. Pour les personnes dont le système immunitaire est affaibli, en particulier celles qui sont infectées par le VIH, le risque de développer la maladie tuberculeuse est beaucoup plus élevé que pour les personnes dont le système immunitaire est normal.

L'examen microscopique des expectorations et la culture microbiologique constituent la référence pour le diagnostic de la tuberculose. Cependant, la microscopie a une sensibilité de détection faible et variable et la culture microbiologique prend beaucoup de temps pour obtenir un diagnostic. Les tests d'amplification directe de l'acide nucléique (TAAN) jouent un rôle important dans l'augmentation de la sensibilité de la détection et dans la réduction du délai de diagnostic, qui passe de plusieurs semaines à quelques heures¹⁻⁴.

Le BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex – OSR for BD MAX™ est un réactif de test qualitatif *in vitro* multiplex en temps réel destiné à être utilisé par le personnel de laboratoire formé à l'utilisation du système automatisé de PCR en temps réel BD MAX™. Le test est destiné à faciliter le diagnostic de *Mycobacterium tuberculosis* en détectant la présence d'ADN complexe de *Mycobacterium tuberculosis* extrait d'échantillons d'expectorations prétraités ou de lavages broncho-alvéolaires (LBA) prélevés chez des personnes à risque d'infection.

PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex – OSR for BD MAX™ est destiné à être utilisé avec le système ouvert BD MAX™ pour le traitement automatisé des échantillons de patients et l'analyse moléculaire. Le système BD MAX™ utilise une combinaison de réactifs de lyse et d'extraction pour réaliser la lyse des cellules et l'extraction des acides nucléiques. Après une lyse enzymatique des cellules à température élevée, les acides nucléiques libérés sont capturés par des billes d'affinité magnétique. Pour contrôler l'efficacité de l'extraction, un témoin du traitement des échantillons d'ADN est inclus dans chaque tube d'extraction d'ADN BD MAX™. Les billes contenant les acides nucléiques liés sont lavées et les acides nucléiques sont élués par la chaleur dans un tampon d'élution. L'acide nucléique élué est alors mélange avec le tampon de réhydratation BioGX Rehydration Buffer, qui est ensuite transféré dans le tube de mélange maître lyophilisé BioGX Sample-Ready™ lyophilized Master Mix afin de le réhydrater. Le mélange réhydraté de réactif d'amplification et d'acide nucléique est ensuite distribué dans la cartouche PCR BD MAX™. Les micro-vannes de la cartouche PCR BD MAX™ sont scellées par le système avant le lancement de PCR pour éviter l'évaporation et la contamination de l'amplicon.

Les séquences d'ADN cibles amplifiées sont détectées à l'aide de sondes d'hydrolyse marquées à une extrémité par un colorant rapporteur fluorescent (fluorophore) et à l'autre extrémité par un fragment désactivateur. Des sondes marquées avec différents fluorophores sont utilisées pour détecter des amplicons spécifiques provenant du complexe Mycobacterium tuberculosis et d'un témoin du traitement des échantillons dans deux canaux optiques différents du système BD MAX™ :

- | | |
|---|---------------|
| ● Mycobacterium tuberculosis | canal 475/520 |
| ● inutilisé | canal 530/565 |
| ● inutilisé | canal 585/630 |
| ● inutilisé | canal 630/665 |
| ● témoin du traitement des échantillons | canal 680/715 |

Lorsque les sondes sont dans leur état natif, la fluorescence du fluorophore est éteinte en raison de sa proximité avec le désactivateur. Cependant, en présence de leur ADNc cible spécifique, les sondes s'hybrident à leurs séquences complémentaires et sont hydrolysées par l'activité exonucléase 5'-3' de l'ADN polymérase lorsqu'elle synthétise le brin naissant le long de la matrice d'ADN. En conséquence, les fluorophores sont séparés de leurs molécules extinctorices et une fluorescence est émise. La quantité de fluorescence détectée dans les quatre canaux optiques utilisés pour le BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex – OSR for BD MAX™ est directement proportionnelle à la quantité de sonde correspondante qui est hydrolysée et donc à la quantité de cible synthétisée. Le système BD MAX™ mesure ces signaux à la fin de

chaque cycle d'amplification en temps réel et interprète les données pour fournir un résultat qualitatif pour chacune des cibles ci-dessus.

RÉACTIFS

Qté	RÉF	Contenu	Tests
1	400-010-MAX	BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex - OSR for BD MAX™ Sample-Ready™ lyophilized PCR Master Mix contenant une polymérase, des nucléotides, des amorces et des sondes moléculaires spécifiques, des amorces et des sondes moléculaires spécifiques au témoin du traitement des échantillons.	24 tests par sachet
1	800-029-W	BioGX Rehydration Buffer Tube (C) Open System Reagents for BD MAX™ Tube de réactif contenant le tampon de réhydratation BioGX Rehydration Buffer à utiliser pour la réhydratation du mélange maître PCR Master Mix lyophilisé.	24 tests par sachet

REMARQUE : Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles sur www.biogx.com/eu ou sur demande.

ÉQUIPEMENT ET MATÉRIEL NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Instrument automatisé d'extraction d'acide nucléique et de PCR en temps réel BD MAX™
- BD MAX™ ExK™ DNA-1 (n° de catalogue BD 442818).
Les kits d'extraction comprennent des tubes de tampon d'échantillon (SBT), des bouchons de septum, des tubes d'extraction et des bandelettes réactives unitaires en nombre suffisant pour 24 tests.
- Cartouches PCR BD MAX™ (n° de catalogue BD 437519).
- Dispositif de prélèvement stérile approprié pour le prélèvement et le stockage des expectorations ou des LBA.
- Vortex Genie 2 Vortexer (n° de catalogue VWR 58815-234) ou équivalent.
- Gants jetables en nitrile.
- BioGX lyophilized Positive Control Template DNA Beads (10^5 copies/bille).
 - o Mycobacterium tuberculosis Référence BioGX 720-0017

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS



- Le BioGX Mycobacterium tuberculosis – OSR for BD MAX™ ne peut être utilisé qu'avec l'instrument automatisé d'extraction d'acide nucléique et de PCR en temps réel BD MAX™ utilisant la bandelette d'extraction BD MAX™ ExK™ DNA-1 et le fichier BioGX UDP qui l'accompagne.
- Il convient de traiter tous les échantillons biologiques, y compris les kits d'extraction et les cartouches PCR utilisés, comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux, conformément aux procédures de laboratoire sécurisées telles que celles décrites dans le document M29⁵ du CLSI (Institut des normes cliniques et de laboratoire) et dans la publication « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories »⁶.
- Les caractéristiques relatives à l'efficacité de ce test ont été déterminées uniquement avec les types de prélèvements énumérés dans la rubrique « Utilisation prévue ». L'efficacité de ce test avec d'autres types de prélèvements ou d'échantillons n'a pas été évaluée.
- N'utilisez pas les réactifs si les sachets de protection sont ouverts ou déchirés à l'arrivée.
- Refermez rapidement les sachets de protection des réactifs au moyen de la fermeture éclair après chaque utilisation. Supprimez tout excès d'air dans les sachets avant de les sceller et conservez-les à une température comprise entre 2 et 8 °C.
- Ne retirez pas le déshydratant des sachets de PCR Master Mix.
- N'utilisez pas le mélange maître Master Mix si le déshydratant n'est pas présent ou est cassé à l'intérieur des sachets.
- N'utilisez pas les tubes de réactif si la feuille d'étanchéité a été ouverte ou endommagée.
- Ne mélangez pas les réactifs de différents sachets, kits ou lots.
- N'utilisez pas de réactifs et/ou de matériaux périmés.
- Chaque tube Master Mix et BioGX Rehydration Buffer est utilisé pour traiter un seul échantillon. Ne réutilisez pas les tubes Master Mix ou BioGX Rehydration Buffer.





- Reportez-vous aux instructions du kit d'extraction BD MAX™ ExK™ DNA-1 pour obtenir des informations sur la manipulation correcte, les précautions à prendre et l'élimination appropriée des déchets.
- Ne mélangez pas les bouchons de septum entre les tubes de tampon d'échantillon et ne réutilisez pas les bouchons de septum car une contamination pourrait se produire et compromettre les résultats du test.
- Vérifiez que les bandelettes réactives unitaires BD sont correctement remplies de liquide (assurez-vous que les liquides sont au fond des tubes).
- N'utilisez pas la pipette à la bouche.
- Ne fumez pas, ne buvez pas et ne mangez pas dans les zones où des échantillons ou des kits sont manipulés.
- Éliminez les réactifs non utilisés et les déchets conformément aux réglementations nationales, fédérales, provinciales, nationales et locales.
- Utilisez des gants propres lors de la manipulation des composants du kit d'extraction, des réactifs PCR et des tubes de tampon.

STOCKAGE ET STABILITÉ



- BioGX recommande un stockage à long terme des sachets non ouverts entre 2 et 25 °C. Consultez l'étiquette du sachet du produit pour connaître sa durée de conservation.
- Les réactifs restent stables pendant 5 jours à une température comprise entre 2 et 30 °C pendant le transport.
- Les réactifs ont été testés pour prouver leur efficacité optimale lorsqu'ils sont stockés correctement et utilisés avant la date de péremption. Des études de stabilité à long terme sont en cours et la date de péremption sera modifiée au fur et à mesure que des données supplémentaires seront disponibles.
- Évitez d'exposer les réactifs (lyophilisés ou réhydratés) à la lumière directe du soleil ou à un éclairage ambiant à long terme.
- Refermez hermétiquement le sachet avec les réactions non utilisées et conservez le sachet dans un endroit sec immédiatement après ouverture.
- Éviter l'exposition à l'humidité et utiliser la totalité du contenu du sachet ouvert dans les 2 mois lorsqu'il est conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C.



MODE D'EMPLOI

Installez le protocole eUDP de BioGX sur le BD MAX™

Il sera nécessaire d'importer un protocole eUDP sur le BD MAX™. L'eUDP le plus récent est disponible en téléchargement sur www.biogx.com dans le menu déroulant en haut à droite de la page d'accueil. Sélectionnez « Education Center », puis « Int. Product Documents ». Choisissez le numéro de produit approprié après avoir cliqué sur « Instructions for Use Manual & Product Inserts » et téléchargez l'eUDP. Veuillez vous référer au manuel d'utilisation⁷ de BD MAX™ pour les instructions de téléchargement.

Collecte et transport d'échantillons

Les échantillons d'expectoration doivent être collectés, transportés et conservés conformément aux procédures opérationnelles standard de l'établissement et du laboratoire.

Préparation des échantillons



REMARQUE : Des tubes à bouchon verrouillable appropriés ou un support à couvercle verrouillable doivent être utilisés lorsque les échantillons sont bouillis. L'utilisateur final doit utiliser les protocoles de biosécurité appropriés (y compris une cagoule de biosécurité et un appareil respiratoire) lors du traitement d'échantillons d'expectorations pouvant contenir des *mycobactéries*.

Prétraitement des échantillons d'expectoration et de LBA

Il est suggéré que les échantillons d'expectoration et de LBA soient prétraités lors d'une étape de digestion/décontamination par NALC-NaOH, suivie d'une digestion par protéinase K et d'un traitement par ébullition. Pour les laboratoires qui ne traitent pas actuellement les expectorations, l'utilisateur peut envisager d'utiliser le kit BD BBL® MycoPrep™ (n° de catalogue BD 240862), un kit de décontamination des échantillons disponible dans le commerce pour le traitement des échantillons mycobactériens.

De nombreuses variantes du traitement à la protéinase K peuvent fonctionner. Une stratégie consiste à ajouter 250 µL de solution de protéinase K (1 mg/ml) au culot remis en suspension obtenu après traitement et neutralisation par NALC-NaOH et à l'incuber à 56-65 °C pendant 30 minutes. Après digestion à la protéinase K, l'échantillon doit être chauffé à 100 °C pendant 10 à 15 minutes (à l'aide d'un tube approprié). **Après refroidissement, ajoutez 200 µL d'échantillon au SBT, placez aseptiquement le bouchon de septum BD™ sur chaque SBT. Mélangez par pulsation le SBT pendant 1 à 3 secondes et placez le SBT dans le plateau d'extraction.**

Pour les échantillons visqueux, l'utilisation d'un agent mucolytique pour réduire la viscosité et favoriser une extraction efficace de l'ADN est recommandée. L'utilisation du kit BD BBL® MycoPrep™ (n° de catalogue BD 240862) permet à la fois la digestion mucolytique et la décontamination de la flore naturelle.

Alternativement, la Copan SLsolution (n° de catalogue Copan 099CE.A) est un agent mucolytique qui favorise une digestion rapide mais n'assure pas la décontamination de la flore naturelle.

Il convient de suivre les recommandations du fabricant pour les produits BD BBL® MycoPrep™ et Copan SLsolution. En fonction de la teneur en mucopolysaccharides de l'échantillon, le temps d'incubation minimum recommandé est de 15 minutes à un maximum de 30 minutes pour BD BBL® MycoPrep™ ou un maximum de 120 minutes pour Copan SLsolution.

Traitement supplémentaire pour les échantillons présentant une inhibition lors d'une analyse précédente

Ajoutez 40 µL d'expectorations prétraitées à 160 µL d'eau pour les diluer. Ajoutez ensuite 25 µL de solution de protéinase K (1 mg/ml), mélangez brièvement à l'aide d'un mélangeur Vortex et incubez à 60 °C pendant 30 minutes. Après digestion à la protéinase K, l'échantillon doit être chauffé à 100 °C pendant 30 minutes. Après refroidissement, ajoutez 200 µL d'échantillon au SBT.

Autres types d'échantillons



Ce test a été optimisé pour être utilisé avec les types et quantités d'échantillons décrits ci-dessus. L'utilisation de tout autre type de prélèvement, de méthode de collecte ou de quantité d'échantillon peut inhiber la réaction en chaîne par polymérase (PCR) ou perturber l'extraction si l'on ne procède pas aux ajustements appropriés de Guardrail et du volume de traitement. BioGX décline toute responsabilité quant aux méthodes de traitement ou types d'échantillons autres que ceux décrits dans cette notice.

Mise en place de la bandelette réactive unitaire sur le BD MAX™



1. Portez des gants en nitrile lorsque vous manipulez les réactifs lyophilisés Sample-Ready™ afin de réduire la génération de charges statiques. N'UTILISEZ PAS de gants en latex.
2. Utilisez uniquement les kits d'extraction BD MAX™ ExK™ DNA-1 avec le BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex – OSR for BD MAX™. N'UTILISEZ PAS le BD MAX™ Master Mix ou les tubes coniques vierges de 0,3 ml du kit d'extraction BD MAX™ ExK™ DNA-1.
3. Chargez une cartouche d'extraction dans le plateau d'extraction par échantillon à tester.
4. Placez un tube d'extraction BD MAX™ ExK™ DNA-1 à la position 1 (point 1) de chaque bandelette réactive unitaire (figure 1).
5. Insérez un tube de réactif BioGX Sample-Ready™ lyophilized PCR Master Mix dans la position 2 (point 2) de chaque bandelette réactive unitaire. Vérifiez que la galette lyophilisée Sample-Ready™ se trouve au fond du tube avant de l'insérer dans la bandelette réactive unitaire. La galette en forme d'entonnoir peut être dans n'importe quelle orientation (v, >, ^, <) au fond du tube.
6. Insérez un tube BioGX Rehydration Buffer dans la position 3 (point 3) de chaque bandelette réactive unitaire. Assurez-vous que le tampon est au fond du tube avant de l'insérer dans la bandelette réactive unitaire.

7. Soulevez le plateau et examinez brièvement le fond de chaque bandelette réactive unitaire pour vous assurer que tous les réactifs se trouvent au fond de chaque tube.
8. Procédez à la génération de la liste de travail et au chargement des échantillons conformément au mode d'emploi de BD MAX™. Sélectionnez le protocole défini par l'utilisateur (eUDP) approprié fourni par BioGX.
9. Chargez le plateau d'extraction et, si nécessaire, une nouvelle carte PCR dans l'instrument, fermez la porte et cliquez sur « Start Run ». Le point 4 restera vide.

Bandelette réactive unitaire BD MAX ExK™ à 4 points
Configuration du Master Mix unique de type 4

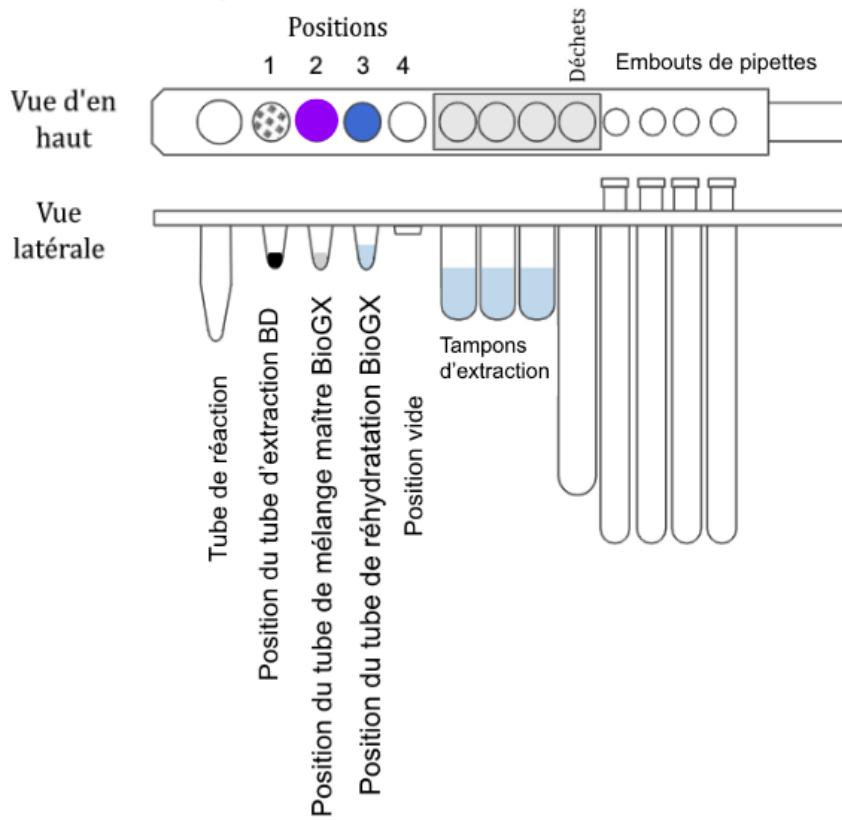


Figure 1 – Schéma des bandelettes réactives unitaires BD MAX™ ExK™ à 4 points

REMARQUE : Insérez toujours d'abord tous les tubes au point 1, puis tous les tubes au point 2, puis tous les tubes au point 3 dans la bandelette réactive unitaire.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

CONTRÔLE

L'étalonnage du BioGX Mycobacterium tuberculosis – OSR for BD MAX™ n'est pas requis. Chaque BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex - OSR for BD MAX™ comprend des amorces moléculaires et des sondes spécifiques pour la détection du témoin du traitement des échantillons d'ADN (SPC) présent dans le kit d'extraction BD MAX™ ExK™ DNA-1. Aucun ajout externe de SPC n'est nécessaire. Le SPC est utilisé à la fois comme témoin de l'extraction de l'échantillon et comme témoin d'amplification interne (IAC) de la PCR.

Les laboratoires doivent déterminer le nombre, le type et la fréquence des tests des échantillons de contrôle conformément aux directives ou aux exigences des réglementations locales, provinciales, étatiques, fédérales et/ou nationales ou des organismes d'accréditation, afin de contrôler l'efficacité de l'ensemble du processus analytique. Pour des conseils généraux sur le contrôle de la qualité, l'utilisateur est invité à consulter les documents MM3 et EP12^{6, 8} du CLSI. Les témoins externes disponibles auprès de BioGX sont traités comme s'il s'agissait d'échantillons de patients (reportez-vous au tableau 1 sous rubrique « Interprétation des résultats » pour l'interprétation des résultats du témoin externe).

Il est recommandé de lancer un (1) témoin positif externe et un (1) témoin négatif externe au moins une fois par jour jusqu'à ce qu'une validation adéquate du processus soit obtenue sur le système BD MAX™ dans chaque laboratoire. La fréquence des tests de contrôle devrait être réduite conformément à la réglementation en vigueur.

Le témoin négatif externe est destiné à détecter la contamination du réactif ou de l'environnement (ou transfert) par les acides nucléiques cibles. Il est recommandé d'utiliser différents types de témoins externes, notamment un échantillon préalablement caractérisé et connu pour être négatif ou un témoin sans matrice (NTC), afin de permettre à l'utilisateur de choisir le plus approprié pour le programme de contrôle de la qualité de son laboratoire. BioGX recommande que le NTC se compose d'eau de qualité moléculaire à ajouter au SBT. Il faut utiliser la même quantité d'eau de qualité moléculaire que celle de l'échantillon en cours de traitement. BioGX recommande également que le témoin négatif externe soit préparé avant le témoin positif externe afin de réduire le risque de contamination croisée pendant la préparation.

Le témoin positif externe est destiné à surveiller les défaillances importantes des réactifs. Il est possible d'utiliser des échantillons de contrôle disponibles dans le

commerce auprès de BioGX ou d'autres sources autorisées. Pour les suspensions de contrôle externe BioGX, il est recommandé que les suspensions d'ADN soient préparées conformément à leur mode d'emploi respectif, puis ajoutées au tube de tampon d'échantillon (SBT). Veuillez vous référer au mode d'emploi BioGX disponible en téléchargement sur www.biogx.com en cliquant sur « Int. Product Documents » sous « Education Center » et en sélectionnant le produit approprié sous « Template Controls ».

Tous les témoins externes devraient donner les résultats escomptés indiqués dans le tableau 1. En bref, les résultats doivent être positifs pour les témoins positifs externes, et négatifs pour les témoins négatifs externes. Un témoin négatif externe dont le résultat est positif indique une contamination croisée de l'environnement et/ou de l'échantillon. Un témoin positif externe dont le résultat est négatif indique un problème de manipulation des échantillons ou de préparation des réactifs.

Un témoin externe dont le résultat est incertain, indéterminé ou incomplet indique une défaillance du réactif ou du système BD MAX™. Vérifiez que le moniteur du système BD MAX™ ne contient pas de messages d'erreur. Reportez-vous à la partie « Résumé des erreurs du système » du manuel d'utilisation du système⁷ BD MAX™ pour l'interprétation des codes d'avertissement et d'erreur. Si le problème persiste, utilisez des réactifs provenant d'un sachet non ouvert ou utilisez un nouveau kit de test.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats sont disponibles à l'onglet *Results* de la fenêtre *Results* sur le moniteur du système BD MAX™. Le logiciel du système BD MAX™ interprète automatiquement le résultat du test lorsque l'eUDP de BioGX est utilisé. Les résultats possibles pour chaque cible pour les échantillons de patients sont présentés dans le tableau 2. La présence d'une ou plusieurs cibles est possible et entraînera la positivité de plusieurs cibles à la fois.

Témoins négatifs et positifs externes

Si le témoin positif ou négatif ne donne pas les résultats escomptés, comme décrit dans le tableau 1, il se peut que le test ait été mal préparé ou exécuté ou qu'il y ait eu un dysfonctionnement des réactifs ou de l'équipement. Dans ce cas, invalidez la série et testez à nouveau tous les échantillons de cette série.

Le témoin du traitement des échantillons fait office de témoin d'extraction des échantillons et de témoin d'amplification interne. Si les résultats cibles sont négatifs, un résultat SPC doit être positif pour que le résultat cible viral soit identifié comme un résultat négatif valide.

Pour de plus amples informations, veuillez consulter la notice du produit pour les billes de contrôle lyophilisées (numéro de produit BioGX, série 720-XXXX) qui peut être téléchargée à l'adresse www.biogx.com dans le menu déroulant en haut à droite de la page d'accueil. Sélectionnez « Education Center », puis « Int. Product Documents ». Choisissez le numéro de produit approprié sous « Template Controls ».

Tableau 1. Interprétation des témoins externes BioGX.

Type de témoin	Applicabilité pour la surveillance	Résultats escomptés	
		MTB	SPC
Témoin négatif - ajout d'eau de qualité moléculaire*	Contamination des réactifs et/ou de l'environnement	Négatif	Positif
Témoin négatif - échantillon négatif connu		Négatif	Positif
MTB Témoin positif	Défaillance substantielle des réactifs, y compris l'intégrité des amorces et des sondes	Positif	Positif

*BioGX recommande que le NTC se compose d'eau de qualité moléculaire à ajouter au SBT. Il faut utiliser la même quantité d'eau de qualité moléculaire que celle de l'échantillon en cours de traitement.

Examen et interprétation des résultats des échantillons de patients

L'évaluation des résultats des tests sur les échantillons cliniques doit être effectuée après que les témoins positifs et négatifs externes ont été examinés et déterminés comme étant valides et acceptables. Si les témoins ne sont pas valides, les résultats du patient ne peuvent pas être interprétés. La liste des résultats escomptés est présentée dans le tableau 2. Si les résultats obtenus ne sont pas conformes à ces directives, extrayez à nouveau l'échantillon et testez-le à nouveau. Si les tests répétés donnent des résultats similaires, prélevez un nouvel échantillon du patient pour le tester.

Tableau 2. Interprétation des résultats des échantillons de patients.

Résultats ^a	Interprétation
MTB POSITIF	<ul style="list-style-type: none"> La cible Mycobacterium tuberculosis Complex a un Ct dans la plage valide et un point final supérieur au paramètre minimum.
MTB NÉGATIF	<ul style="list-style-type: none"> La cible Mycobacterium tuberculosis Complex ne s'est pas amplifiée et le SPC a un Ct dans la plage valide et un point final supérieur au paramètre minimum.
UNR	<ul style="list-style-type: none"> Résultat incertain. Pas d'amplification de la cible ; pas d'amplification du SPC.
IND	<ul style="list-style-type: none"> Indéterminé en raison d'une défaillance du système BD MAX™ (avec codes d'avertissement ou d'erreur^b)
INC	<ul style="list-style-type: none"> Exécution incomplète (avec des codes d'avertissement ou d'erreur^b)

^aUn résultat de test positif n'indique pas nécessairement la présence d'organismes infectieux viables. Un résultat positif indique la présence de l'acide nucléique cible. Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'organismes infectieux et ne doit pas servir de base unique pour le traitement ou d'autres décisions de prise en charge du patient.

^bReportez-vous à la partie « Dépannage » du manuel d'utilisation du système⁷ BD MAX™ pour l'interprétation des codes d'avertissement et d'erreur.

REMARQUE : En présence d'un résultat positif à forte concentration pour une cible quelconque, le SPC peut être affecté négativement (pas d'amplification ou amplification différée). C'est normal.

RÉPÉTER LA PROCÉDURE DE TEST

En cas de défaillance de l'instrument, il est possible de répéter le test en établissant une nouvelle série de tests à l'aide de l'échantillon/prélèvement original et d'un nouveau SBT, comme décrit ci-dessus au paragraphe « Préparation des échantillons ».

LIMITES DE LA PROCÉDURE

- Pour le diagnostic *in vitro*.
- Ce dispositif n'est pas conçu comme le seul moyen de diagnostic des maladies infectieuses. De par la nature inhérente de la technologie utilisée pour l'extraction et la détection d'acide nucléique, l'acide nucléique peut être détecté à partir d'organismes morts. L'utilisation prévue est limitée à la détection de la présence de la signature d'un acide nucléique d'un organisme, et non au diagnostic d'une maladie ou d'un état pathologique.
- Ce produit est destiné à être utilisé avec des échantillons prélevés à l'aide de dispositifs de prélèvement et de transport d'échantillons répertoriés dans la partie « Équipement et matériel requis mais non fournis ».
- Ce produit ne doit être utilisé qu'avec les réactifs du système ouvert BD MAX™ sur le système BD MAX™.
- Des résultats de test erronés peuvent résulter d'un prélèvement, d'une manipulation ou d'un stockage inappropriés des échantillons, d'une erreur technique, d'un mélange d'échantillons ou du fait que le nombre d'organismes présents dans l'échantillon est inférieur à la sensibilité analytique du test. Il est nécessaire de respecter scrupuleusement les instructions de la notice d'emballage et le manuel d'utilisation du système⁷ BD MAX™ pour éviter des résultats erronés.
- Une bonne technique de laboratoire est essentielle pour la bonne exécution de ce test. En raison de sa grande sensibilité analytique, il convient de prendre des précautions particulières pour préserver la pureté de tous les matériaux et réactifs.
- Un résultat de test positif n'indique pas nécessairement la présence d'organismes infectieux viables. Un résultat positif indique la présence de l'acide nucléique cible. Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'organismes infectieux et ne doit pas servir de base unique pour le traitement ou d'autres décisions de prise en charge du patient.
- Comme pour tous les tests de diagnostic *in vitro* basés sur la PCR, il est possible de détecter des niveaux extrêmement faibles de la cible, inférieurs à la limite de détection du test, mais il se peut que ces résultats ne soient pas reproductibles.
- Des résultats faussement négatifs peuvent survenir en raison d'une perte d'acide nucléique due à une collecte, un transport ou un stockage inadéquats des échantillons ou en raison d'une lyse et/ou d'une extraction cellulaire inadéquate. Le témoin du traitement des échantillons a été ajouté au test pour faciliter l'identification des échantillons contenant des inhibiteurs de l'amplification par PCR et pour contrôler l'intégrité des réactifs et du système de test dans son ensemble. Le témoin du traitement des échantillons n'indique pas si une perte d'acide nucléique a eu lieu en raison d'un prélèvement, d'un transport ou d'un

stockage inadéquat des échantillons, ou si les cellules ont été correctement lysées.

- Les résultats du BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex – OSR for BD MAX™ peuvent parfois être considérés comme incertains à cause d'un témoin du traitement des échantillons invalide, ou indéterminés ou incomplets à cause d'une défaillance de l'instrument, et nécessiter un nouveau test qui peut entraîner un retard dans l'obtention des résultats finaux.
- Des mutations ou des polymorphismes dans les zones de liaison des amorces ou des sondes peuvent affecter la détection de bactéries *Mycobacterium tuberculosis* nouvelles ou inconnues, entraînant un résultat faussement négatif avec le BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex – OSR for BD MAX™.
- Le BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex – OSR for BD MAX™ nécessite l'utilisation de deux (2) canaux optiques du système BD MAX™ : canal 475/520 et canal 680/715.

CARACTÉRISTIQUES D'EFFICACITÉ

Efficacité analytique

Les panels de QCMD de 2014 et de 2015 de *Mycobacterium tuberculosis* (N=10 pour les deux) ont été testés avec le BioGX MTB. Les échantillons ont été introduits dans des tubes de SBT BD MAX™ et soumis à un mode d'extraction complet en utilisant les bandelettes réactives unitaires BD MAX™ ExK™ DNA-1 (tableaux 3 et 4).

Tableau 3. Résultats de l'analyse de l'efficacité de QCMD de 2014 pour *Mycobacterium tuberculosis*

Cible	Résultat
LCR synthétique MTB positif (N=3)	Concordants à 100 % (3/3)
Expectoration synthétique MTB positif (N=4)	Concordants à 100 % (4/4)
Expectoration synthétique <i>M. xenopi</i> (N=1)	Concordants à 100 % (1/1)
LCR synthétique négatif (N=1)	Concordants à 100 % (1/1)
Expectoration synthétique MTB négatif (N=1)	Concordants à 100 % (1/1)

Tableau 4. Résultats de l'analyse de l'efficacité de QCMD de 2015 pour *Mycobacterium tuberculosis*

Cible	Résultat
LCR synthétique MTB positif (N=4)	Concordants à 100 % (4/4)
Expectoration synthétique MTB positif (N=3)	Concordants à 100 % (3/3)
Expectoration synthétique M. xenopi (N=1)	Concordants à 100 % (1/1)
LCR synthétique négatif (N=1)	Concordants à 100 % (1/1)
Expectoration synthétique MTB négatif (N=1)	Concordants à 100 % (1/1)

Les échantillons des expectorations cliniques ont été testés avec le test BioGX MTB en comparaison avec le test MTB ELITe MGB sur le Cepheid Smartcycler (tableau 5).

Tableau 5. BioGX vs. MTB ELITe MGB Kit sur Cepheid Smartcycler (N=54)

Résultat de référence	Nombre d'échantillons (N)	Résultat BioGX
Complexe Mycobacterium tuberculosis positif	N = 26	Concordants à 100 % (26/26)
Complexe Mycobacterium tuberculosis négatif	N = 25	Concordants à 100 % (25/25)
Incertain (par ELITe)	N = 3	Concordants à 100 % (3/3)

REMARQUE : Un échantillon rétrospectif de MTB a été initialement testé positif par la méthode de référence, mais a été testé négatif par le test BioGX. Lorsqu'il a été retesté par la méthode de référence, l'échantillon était négatif. Ce point de données a été ajouté à l'ensemble des données négatives.

Les échantillons de crachats cliniques et les échantillons de LBA ont été testés avec le test BioGX MTB en comparaison avec la culture comme référence (tableaux 6 et 7).

Tableau 6. Résultats des expectorations

Résultat de référence	Nombre d'échantillons (N)	Résultat BioGX
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Positif par culture	N = 11	Concordants à 100 % (11/11)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Négatif par culture	N = 7	Concordants à 100 % (7/7)
Incertain par culture	N = 6	3 positifs, 3 négatifs par BioGX

Tableau 7. Résultats de LBA

Résultat de référence	Nombre d'échantillons (N)	Résultat BioGX
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Positif par culture	N = 13	Concordants à 100 % (13/13)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Négatif par culture	N = 14	Concordants à 86 % (12/14) – 2 positifs par BioGX

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex- OSR for BD MAX™ a été déterminée comme suit : une série de dilution des échantillons d'ADN synthétique positifs quantifiés (témoins de matrice BioGX) pour chaque cible et matrice clinique (échantillon d'expectoration prétraité) a été déterminée pour 20 échantillons artificiels indépendants. La sensibilité analytique (limite de détection, LdD) est définie comme la concentration la plus faible à laquelle 95 % de tous les échantillons répliqués sont positifs (tableau 8).

Tableau 8. Sensibilité analytique du BioGX Mycobacterium tuberculosis Complex– OSR for BD MAX™

Cible	LdD (copies par ml) Échantillon d'expectoration prétraité
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> Complex	$1,90 \times 10^2$

*En supposant une efficacité d'extraction de 100 % sur le BD MAX™

Inclusivité/exclusivité analytique

L'ensemble d'amorces du test BioGX MTB est conçu pour détecter le gène cible IS6110 du complexe *Mycobacterium tuberculosis*. L'analyse *in silico* de la recherche d'amplicons dans BLAST indique que les amorces s'amplifieront et que la sonde s'hybridera aux 284 soumissions d'organismes du complexe *Mycobacterium tuberculosis* contenant l'insert IS6110. Cela inclut *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium bovis* (BCG), *Mycobacterium microti*, *Mycobacterium africanum*, *Mycobacterium caprae* et *Mycobacterium canettii*. Outre les séquences mentionnées ci-dessus, aucune des autres séquences de la base de données BLAST (n) (en date du 5 avril 2017) ne s'amplifie et ne donne lieu à un rapport pour l'ensemble d'amorces et de sondes du test BioGX MTB.

Reproductibilité

L'étude de reproductibilité a été réalisée sur la matrice cible synthétique de la toxine coquelucheuse par trois techniciens différents, indépendamment sur deux instruments BD MAX™. En utilisant un lot de réactifs, une série de dilutions de la matrice d'ADN a été réalisée entre les dilutions 100 000X LdD et 10⁻¹ LdD de la matrice de base. Tous les échantillons de 1X LdD à 100 000X LdD étaient positifs et concordaient d'un échantillon à l'autre et d'un technicien à l'autre. Tous les échantillons analysés à 10⁻¹ LdD étaient négatifs concordants, comme prévu.

Reproductibilité de fabrication

Sept lots distincts ont été fabriqués et ont été jugés équivalents sur la base des procédures internes de validation du contrôle de la qualité. Il s'agissait de cinq lots de production : 016-089-094, 016-145-163, 016-245-290, 016-267-325, 016-278-344 et de deux lots de production à grande échelle : 016-307-401 et 017-039-032.

RÉFÉRENCES

1. Savelkoul P.H.M., Catsburg A., et. al. Detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex with real-time PCR: Comparison of different primer-probe sets based on the *IS6110* element. *J. Micro Methods* 66 (2006) 177-180.
2. Site Web des Centers for Disease Control, www.cdc.gov, consulté le 20 février 2017.
3. Jeanes C., O'Grady J., Diagnosing tuberculosis in the 21st century – Dawn of a genomics revolution?, *Int J Myco*, 5(2016): 384-391.
4. Savelkoul, P., et al, Florida Department of Health, Bureau of Public Health Laboratories Mycobacteriology & Mycology Laboratory. Standard Operating Procedure (SOP).
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (v. dernière édition).
6. Centers for Disease Control and Prevention et National Institutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Choosewood L.C. et Wilson D.E. (eds) (2009). N° de publication HHS (CDC) 21-1112.
7. Manuel d'utilisation du système BD MAX™ (v. dernière révision), BD Life Sciences, Sparks, Maryland 21152 États-Unis.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases, 3e édition. Nolte F. S. (2015). Document MM3 (v. dernière édition).

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

Révision	Date	Description de la modification
03	25 août 2025	Changer l'adresse de fabrication de BioGX BV à BioGX Inc. conformément à DTP0825.
02	25 Septembre 2023	Clarification des conditions de stockage à long terme et spécification du stockage en sachet ouvert à 2-8°C des réactifs.
01	02 Décembre 2022	Première version

SYMBOLES

Symbol	Signification	Symbol	Signification
	Numéro de catalogue		Contient la quantité suffisante pour <n> tests
	Marquage CE de conformité		Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Ne pas réutiliser		Limitation de température
	Code du lot		Garder au sec
	Mise en garde		Tenir à l'écart de la lumière du soleil
	Consulter le mode d'emploi		Date de péremption
	Fabricant		Risques biologiques
	Contrôle		Traduction
	Représentant Autorisé		



BioGX

BioGX
1500 First Avenue, North, L136, Birmingham, AL 35203, USA
Phone: +1.205.250.8055
Fax: +1.205.449.8055