



## ResistancePlus® MG

Test de PCR multiplexe en temps réel pour l'identification de *Mycoplasma genitalium* et la détection des mutations associées à la résistance à l'azithromycine



Produit	Plateforme	Taille (réactions)	Référence
ResistancePlus® MG	LC480 II z 480	100	<b>REF</b> 20001L-01
ResistancePlus® MG	LC480 II z 480	25	<b>REF</b> 2000125
ResistancePlus® MG <sub>(550)</sub>	ABI 7500 Fast ABI 7500 Fast Dx	100	<b>REF</b> 2000201
ResistancePlus® MG <sub>(550)</sub>	ABI 7500 Fast ABI 7500 Fast Dx	25	<b>REF</b> 2000225
ResistancePlus® MG <sub>(675)</sub>	CFX96™ Dx CFX96™ Touch	100	<b>REF</b> 2000301
ResistancePlus® MG <sub>(675)</sub>	CFX96™ Dx CFX96™ Touch	25	<b>REF</b> 2000325

### Produits accessoires – Logiciel d'analyse

ResistancePlus® MG (LC480)	<b>REF</b> 99003
ResistancePlus® MG (z480)	<b>REF</b> 99018
ResistancePlus® MG (7500)	<b>REF</b> 99002
ResistancePlus® MG (CFX)	<b>REF</b> 99008
REFLEX ResistancePlus® MG (LC480)	<b>REF</b> 99023
REFLEX ResistancePlus® MG (z480)	<b>REF</b> 99024
REFLEX ResistancePlus® MG (7500)	<b>REF</b> 99026
REFLEX ResistancePlus® MG (CFX)	<b>REF</b> 99025



**MedEnvoy**  
Prinses Margrietplantsoen 33 – Suite 123  
2595 AM La Haye  
Les Pays-Bas



**SpeedX Pty Ltd**  
Suite 102 National Innovation Centre  
4 Cornwallis Street, Eveleigh  
NSW 2015, Australie  
Tél : +61 2 9209 4170, E-mail : [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au)

### RÉSERVÉ À UN USAGE PROFESSIONNEL

Non destiné à la vente aux États-Unis

## Contenus

1	Description du produit .....	5
2	Utilisation prévue .....	5
3	Informations sur les pathogènes .....	5
4	Contenu du kit.....	6
5	Expédition et stockage .....	7
6	Avertissements et précautions .....	8
6.1	Généralités.....	8
6.2	À l'intention des laboratoires.....	8
6.3	Manipulation des échantillons.....	8
6.4	Test.....	8
6.5	Précautions de sécurité .....	8
6.6	Plug-ins du test : avertissements/précautions/limites .....	8
7	Produits et consommables associés .....	9
8	Principe technologique.....	11
9	Aperçu de la procédure.....	13
10	Procédure détaillée .....	14
10.1	Prélèvement, transport et conservation des échantillons .....	14
10.1.1	Dispositifs validés pour le prélèvement des échantillons.....	14
10.1.2	Prélèvement, transport et conservation des échantillons d'urine pure .....	14
10.1.3	Prélèvement, transport et conservation des frottis secs .....	14
10.1.4	Prélèvement, transport et conservation d'échantillons prélevés à l'aide d'un kit multi-Collect Specimen Collection Kit (Abbott, n° réf. 9K12-01).....	14
10.1.5	Prélèvement, transport et conservation des kits pour prélèvement d'urine Aptima® (Hologic, n° réf. 301040) .....	15
10.1.6	Prélèvement, transport et conservation des kits pour écouvillonnage Aptima® Multitest (Hologic, n° réf. PRD-03546) 15	
10.1.7	Prélèvement, transport et conservation des kits DeltaSwab ViCUM® 2 mL + écouvillon floqué standard (deltalab, n° réf. 304278) 16	
10.1.8	Prélèvement, transport et conservation des flacons Vacumed® Urine sans conservateur (FL medical, n° réf. 44950) 16	
10.1.9	Prélèvement, transport et conservation des kits Regular FLOQSwab™ dans 1 mL de milieu UTM™ (Copan, n° réf. 359C) 16	
10.1.10	Prélèvement, transport et conservation des milieux PCR cobas® (Roche, n° réf. 06466281190).....	16
10.1.11	Extraits d'échantillon validés.....	17
10.2	Traitement des échantillons.....	17
10.3	Cellules de contrôle interne (CI) .....	17
10.3.1	Contrôle interne sur MagNA Pure 96 .....	18
10.3.2	Contrôle interne sur MICROLAB STARlet IVD.....	18
10.3.3	Contrôle interne sur QIASymphony® SP.....	18
10.3.4	Contrôle interne sur easyMAG® .....	19
10.4	Préparation de la PCR en temps réel .....	20
10.4.1	Préparation du mastermix.....	20
10.4.2	Stabilité du mastermix .....	20
10.5	Préparation de la PCR avec des acides nucléiques extraits (flux de travail « reflex »).....	21
11	Paramétrage et analyse .....	21
12	Interprétation des résultats.....	22

13	Limitations.....	23
14	Contrôle qualité.....	23
15	Instructions d'utilisation de <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG Positive Control .....	24
15.1	Instructions d'utilisation .....	25
16	Caractéristiques de performance .....	26
16.1	Performances cliniques .....	26
16.1.1	Étude clinique 1 .....	26
16.1.2	Étude clinique 2.....	27
16.1.3	Étude clinique 3.....	28
16.1.4	Étude clinique 4.....	30
16.1.5	Étude clinique 5.....	31
16.1.6	Étude clinique 6.....	32
16.1.7	Étude clinique 7.....	34
16.2	Performances analytiques .....	35
16.2.1	Reproductibilité et répétabilité.....	35
16.2.2	Sensibilité analytique.....	38
16.2.3	Spécificité analytique.....	38
16.2.4	Substances potentiellement perturbatrices .....	39
16.2.5	Réactivité croisée avec les autres mutations affectant l'ARNr 23S.....	41
17	Service clients et assistance technique .....	41
18	Références .....	42
19	Annexe 1 : LightCycler <sup>®</sup> 480 instrument II .....	43
19.1	Programmation du LightCycler <sup>®</sup> 480 Instrument II (LC480 II).....	43
19.2	Colour Compensation (Compensation de couleur) pour LightCycler <sup>®</sup> 480 Instrument II.....	47
19.3	Interprétation des résultats .....	48
20	Annexe 2 : analyseur cobas z 480 .....	49
20.1	Programmation de l'analyseur cobas z 480 .....	49
20.2	Colour Compensation (compensation de couleur) pour l'analyseur cobas z 480.....	53
20.3	Interprétation des résultats .....	54
21	Annexe 3 : Applied Biosystems <sup>®</sup> 7500 Fast.....	55
21.1	Programmation du système Applied Biosystems <sup>®</sup> 7500 Fast.....	55
21.2	Interprétation des résultats .....	58
22	Annexe 4 : Applied Biosystems <sup>®</sup> 7500 Fast Dx .....	59
22.1	Programmation du système Applied Biosystems <sup>®</sup> 7500 Fast Dx.....	59
22.2	Interprétation des résultats .....	63
23	Annexe 5 : Systèmes de PCR en temps réel Bio-Rad CFX96 <sup>™</sup> Dx et CFX96 Touch <sup>™</sup> .....	64
23.1	Programmation des systèmes de PCR en temps réel CFX96 <sup>™</sup> Dx et CFX96 Touch <sup>™</sup> .....	64
23.2	Interprétation des résultats .....	66
24	Annexe A : interprétation des résultats.....	67
24.1	Plateforme FastFinder - Configuration minimale requise .....	67
24.2	Device set up (Configuration du dispositif) (nouvel utilisateur ou nouveau dispositif) .....	68
24.2.1	Compensation de couleur .....	69
24.3	Module de test (nouvel utilisateur).....	69
24.4	Dénomination des échantillons.....	70

24.5	Ajouter des numéros de lot de mélange .....	70
24.6	Analyse .....	70
24.7	Résultats .....	72
24.8	Courbe de référence .....	73
24.9	Aperçu des résultats.....	74
24.10	Exporter des résultats.....	74
24.11	Exemple de graphes pour contrôle .....	75
24.11.1	<i>M. genitalium</i> , contrôle pour mutation de l'ARNr 23S (Pa) .....	75
24.11.2	<i>M. genitalium</i> , contrôle ARNr 23S de type sauvage (Pb) .....	75
24.11.3	<i>M. genitalium</i> , contrôle négatif (N) (échantillon négatif).....	76
24.12	Exemples .....	76
24.12.1	Exemple 1. Échantillon <i>M. genitalium</i> , échantillon ARNr 23S de type sauvage avec un nombre faible de copies.....	76
24.12.2	Exemple 2. Échantillon <i>M. genitalium</i> , échantillon ARNr 23S de type sauvage avec un nombre faible de copies.....	77
24.12.3	Exemple 3. Échantillon <i>M. genitalium</i> , mutation de l'ARNr 23S.....	77
24.12.4	Exemple 4. Échantillon <i>M. genitalium</i> , mutation de l'ARNr 23S.....	77
24.12.5	Exemple 5. Échantillon négatif.....	78
24.12.6	Exemple 6. Échantillon Non valide.....	78
24.12.7	Exemple 7. Échantillons à corriger – Signal négatif .....	78
24.12.8	Exemple 8. Échantillons à corriger – Signal non concluant .....	79
25	Glossaire .....	81

## 1 Description du produit

Le kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG détecte simultanément *M. genitalium* et 4 mutations aux positions 2058 and 2059 du gène codant l'ARNr 23S (numération d'*E. coli*), associées à la résistance à l'azithromycine (antibiotique de la famille des macrolides). Le kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG est un test PCR multiplexe à 1 puits, en temps réel, comprenant 3 lectures. La lecture 1 indique la présence ou l'absence de *M. genitalium* en détectant le gène MgPa. La lecture 2 indique la présence de la mutation A2059G, A2058T, A2058T ou A2058C du gène codant l'ARNr 23S. La lecture 3 est un contrôle interne permettant de vérifier l'efficacité de l'extraction et l'inhibition par qPCR. Le kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG utilise **PlexZyme**<sup>®</sup> et **PlexPrime**<sup>®</sup> afin de garantir sa spécificité et ses capacités de multiplexage supérieures. Le test est validé sur des échantillons extraits au moyen des dispositifs MagNA Pure 96 System (Roche), MICROLAB STARlet IVD (Hamilton), QIAAsymphony<sup>®</sup> SP (QIAGEN), NUCLISENS<sup>®</sup> easyMAG<sup>®</sup> (Biomérieux), avec détection en temps réel sur dispositif Roche LightCycler<sup>®</sup> 480 Instrument II (LC480 II) et analyseurs cobas z 480 (z480), ainsi que sur les systèmes de détection par PCR en temps réel Applied Biosystems<sup>®</sup> 7500 Fast (7500 Fast), Applied Biosystems<sup>®</sup> 7500 Fast Dx (7500 Fast Dx), Bio-Rad CFX96<sup>™</sup> Dx (CFX96 Dx) et CFX96 Touch<sup>™</sup> (CFX96 Touch).

## 2 Utilisation prévue

Le kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG est un dispositif de diagnostic *in vitro*. Il s'agit d'un test PCR qualitatif multiplexé en temps réel permettant d'identifier *M. genitalium* et de détecter 4 mutations du gène codant l'ARNr 23S (A2058G, A2059G, A2058T et A2058C, numération d'*Escherichia coli*), associées à une résistance à l'azithromycine (antibiotique de la famille des macrolides). Il est destiné à contribuer au diagnostic de *M. genitalium* et détecte les mutations associées à la résistance à l'azithromycine chez *M. genitalium*. Il convient de l'utiliser en association avec les informations cliniques et les autres résultats biologiques du patient.

Le kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG peut être utilisé avec les échantillons suivants prélevés chez des patients aussi bien symptomatiques qu'asymptomatiques: urine masculine et féminine et frottis vaginaux.

Un résultat négatif n'exclut pas une infection par *M. genitalium* et ne confirme pas l'existence d'une sensibilité à l'azithromycine, les échecs thérapeutiques pouvant être dus à d'autres mécanismes.

Le kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG est destiné à être utilisé dans un cadre professionnel, par exemple hôpitaux et laboratoires de référence ou d'État. Il n'est pas destiné à être utilisé en tant qu'auto-test, à domicile ou dans les cabinets médicaux.

## 3 Informations sur les pathogènes

*M. genitalium* est une petite bactérie qui se trouve dans le tractus urogénital humain. *M. genitalium* s'associe à une vaste panoplie d'infections sexuellement transmissibles (IST). Chez l'homme, elle constitue la deuxième cause la plus fréquente d'urétrite non gonococcique (UNG) et s'associe également à la prostatite, l'épididymite et la balanoposthite, une inflammation du gland et du prépuce<sup>1</sup>. Chez la femme, elle s'associe à la cervicite et aux maladies inflammatoires pelviennes (MIP), notamment à l'endométrite (inflammation de l'endomètre) et à la salpingite (inflammation des trompes de Fallope)<sup>1,2,3</sup>.

L'azithromycine est fréquemment utilisée pour le traitement des infections à *M. genitalium* et pour la prise en charge syndromique des IST telles que l'UNG et la cervicite. L'azithromycine fait partie de la famille des macrolides, une classe d'antibiotiques. Elle agit en se liant à l'ARNr 23S pour inhiber la synthèse protéique. Certaines mutations ponctuelles du gène codant pour l'ARNr 23S, à savoir A2058G, A2059G, A2058T, A2058C et A2059C (numération d'*E. coli*), s'associent à un échec thérapeutique et/ou une résistance *in vitro* à l'azithromycine<sup>4,5</sup>. Les mutations les plus fréquentes sont A2058G et A2059G : d'après une étude récente, elles contribuent à 89 % des mutations responsables de la résistance aux macrolides<sup>6</sup>.

## 4 Contenu du kit

Tableau 1. Contenu des kits <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG				
Couleur du capuchon	Contenu	Description	N° réf.: 20001L-01 (100 réactions)	N° réf.: 2000125 (25 réactions)
Bleu	<i>Plex</i> Mastermix, 2 x	Mastermix contenant tous les composants nécessaires à la qPCR : dNTP, MgCl <sub>2</sub> , ADN polymérase et tampon	1 x 1 mL	1 x 250 µL
Marron	Mélange MG+23S, 20x	Mélange contenant les oligonucléotides <sup>^</sup> nécessaires à l'amplification et la détection de <i>M. genitalium</i> et des mutations affectant l'ARNr 23S	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Blanc	Mélange de contrôle 1, 20 x	Mélange contenant les oligonucléotides <sup>^</sup> nécessaires à l'amplification et la détection aux fins des tests de contrôle interne sur LC480 II et z 480	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Rouge	Cellules de contrôle interne <sup>#</sup>	Cellules de contrôle interne, contenant un modèle ADN pour contrôle interne permettant de vérifier l'efficacité de l'extraction et de l'amplification	1 x 500 µL	1 x 100 µL
Incolore	Eau sans nucléase	Eau pour PCR	1 x 1 mL	1 x 1 mL

# Conserver les tubes de modèles séparément des mélanges d'oligonucléotides, à savoir dans la pièce dédiée à la manipulation des modèles ou des acides nucléiques

<sup>^</sup> Les oligonucléotides se présentent sous la forme de couples d'amorces pour PCR (y compris amorces *PlexPrime*<sup>®</sup>), d'enzymes *PlexZyme*<sup>®</sup> et de sondes fluorescentes

Tableau 2. Contenu des kits <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG <sub>(550)</sub>				
Couleur du capuchon	Contenu	Description	N° réf.: 2000201 (100 réactions)	N° réf.: 2000225 (25 réactions)
Bleu	<i>Plex</i> Mastermix, 2 x	Mastermix contenant tous les composants nécessaires à la qPCR : dNTP, MgCl <sub>2</sub> , ADN polymérase et tampon	1 x 1 mL	1 x 250 µL
Marron	Mélange MG+23S, 20x	Mélange contenant les oligonucléotides <sup>^</sup> nécessaires à l'amplification et la détection de <i>M. genitalium</i> et des mutations affectant l'ARNr 23S	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Blanc	Mélange de contrôle 2, 20 x	Mélange contenant les oligonucléotides <sup>^</sup> nécessaires à l'amplification et la détection aux fins des tests de contrôle interne sur 7500 Fast et 7500 Fast Dx	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Rouge	Cellules de contrôle interne <sup>#</sup>	Cellules de contrôle interne, contenant un modèle ADN pour contrôle interne permettant de vérifier l'efficacité de l'extraction et de l'amplification	1 x 500 µL	1 x 100 µL
Incolore	Eau sans nucléase	Eau pour PCR	1 x 1 mL	1 x 1 mL

# Conserver les tubes de modèles séparément des mélanges d'oligonucléotides, à savoir dans la pièce dédiée à la manipulation des modèles ou des acides nucléiques

<sup>^</sup> Les oligonucléotides se présentent sous la forme de couples d'amorces pour PCR (y compris amorces *PlexPrime*<sup>®</sup>), d'enzymes *PlexZyme*<sup>®</sup> et de sondes fluorescentes

Tableau 3. Contenu des kits <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG <sub>(675)</sub>				
Couleur du capuchon	Contenu	Description	N° réf.: 2000301 (100 réactions)	N° réf.: 2000325 (25 réactions)
Bleu	<i>Plex</i> Mastermix, 2 x	Mastermix contenant tous les composants nécessaires à la qPCR : dNTP, MgCl <sub>2</sub> , ADN polymérase et tampon	1 x 1 mL	1 x 250 µL
Marron	Mélange MG+23S, 20x	Mélange contenant les oligonucléotides <sup>^</sup> nécessaires à l'amplification et la détection de <i>M. genitalium</i> et des mutations affectant l'ARNr 23S	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Blanc	Mélange de contrôle 3, 20 x	Mélange contenant les oligonucléotides <sup>^</sup> nécessaires à l'amplification et la détection aux fins des tests de contrôle interne sur CFX96 Dx et CFX96 Touch	1 x 100 µL	1 x 25 µL
Rouge	Cellules de contrôle interne <sup>#</sup>	Cellules de contrôle interne, contenant un modèle ADN pour contrôle interne permettant de vérifier l'efficacité de l'extraction et de l'amplification	1 x 500 µL	1 x 100 µL
Incolore	Eau sans nucléase	Eau pour PCR	1 x 1 mL	1 x 1 mL

<sup>#</sup> Conserver les tubes de modèles séparément des mélanges d'oligonucléotides, à savoir dans la pièce dédiée à la manipulation des modèles ou des acides nucléiques

<sup>^</sup> Les oligonucléotides se présentent sous la forme de couples d'amorces pour PCR (y compris amorces *PlexPrime*<sup>®</sup>), d'enzymes *PlexZyme*<sup>®</sup> et de sondes fluorescentes

## 5 Expédition et stockage

- Les composants des kits *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG sont expédiés sur glace carbonique ou packs de gel réfrigérant. Après réception, tous les composants doivent être conservés à une température de -25 °C à -15 °C. Il est recommandé de ne pas effectuer plus de 15 cycles de congélation/décongélation.
- Dans les bonnes conditions de conservation et de manipulation, l'activité du kit est préservée jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser après la date de péremption.
- Les incidents graves doivent être signalés à SpeedX à l'adresse [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au)

## 6 Avertissements et précautions

### 6.1 Généralités

- Usage réservé au diagnostic *in vitro*.
- Lire attentivement le manuel avant utilisation. Afin de garantir la fiabilité des résultats, suivre scrupuleusement les procédures telles qu'elles sont décrites. Tout écart par rapport à ces procédures peut affecter les performances du test.
- Les utilisateurs doivent avoir été dûment formés à l'utilisation du test **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG.
- Les incidents graves doivent être signalés au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre où réside l'utilisateur et/ou le patient.

### 6.2 À l'intention des laboratoires

- Il est recommandé de réaliser la préparation/l'extraction des échantillons, la préparation du mastermix, l'ajout des échantillons et le thermocyclage dans des espaces physiquement séparés. Au minimum, l'instrument PCR devrait dans l'idéal être placé dans une pièce distincte des espaces de préparation des réactifs.
- Il convient de suivre les précautions habituellement appliquées au sein du laboratoire. Lors de la manipulation des réactifs, porter un équipement de protection personnel adapté, par exemple gants, lunettes de protection et blouse de laboratoire.
- Les échantillons cliniques peuvent contenir des organismes pathogènes. Traiter tous les échantillons biologiques comme potentiellement infectieux et suivre les procédures de sécurité en vigueur dans votre établissement lors de la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Suivre les procédures de votre établissement en matière d'élimination des déchets dangereux pour éliminer correctement les échantillons, les réactifs et les autres matériaux potentiellement contaminés.

### 6.3 Manipulation des échantillons

- Les échantillons doivent être prélevés, transportés et conservés conformément aux techniques de laboratoire standard ou aux instructions qui accompagnent les kits de prélèvement.

### 6.4 Test

- Les précautions de base pour prévenir la contamination des réactions PCR sont, notamment : l'utilisation de filtres pour pointes de pipettes stériles, l'utilisation d'une nouvelle pointe de pipette pour chaque pipetage et la séparation des étapes du flux de travail.
- Les tests PCR sont sensibles à la contamination par les produits de PCR précédents. Ne jamais ouvrir les récipients de réaction une fois la PCR achevée.
- Les réactifs du test contiennent un tampon IDTE qui peut provoquer des irritations oculaires graves. Il est recommandé de manipuler les réactifs dans une zone bien ventilée et de porter un équipement de protection personnel adapté, par exemple gants, lunettes de protection et blouse de laboratoire.

### 6.5 Précautions de sécurité

- Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles sur demande. Contactez [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour plus d'informations.

### 6.6 Plug-ins du test : avertissements/précautions/limites

- Lorsqu'il est utilisé avec l'instrument PCR correspondant, le logiciel SpeedX contrôle uniquement l'analyse des données brutes générées par le kit de test. Il ne contrôle pas la préparation des échantillons, le paramétrage de l'équipement ni la mise à disposition du traitement.
- Les utilisateurs doivent être dûment formés à l'utilisation du logiciel d'analyse **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG. L'accès au logiciel doit être restreint à chaque utilisateur individuel assigné.
- Il est recommandé d'implémenter un système d'authentification des utilisateurs pour accéder au logiciel, ainsi que des mesures de cybersécurité, telles qu'un logiciel antivirus ou un pare-feu, au sein de l'infrastructure informatique utilisée pour son utilisation.
- En cas de détection d'un incident de cybersécurité, tel qu'un accès non autorisé ou une attaque par ransomware, contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour obtenir de l'aide.

## 7 Produits et consommables associés

### *Matériel de contrôle positif*

- Kit de contrôle positif **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG (SpeedX, Cat. n° 95001)

### *Consommables de laboratoire divers*

- Gants et blouses de laboratoire propres
- Agitateur vortex
- Centrifugeuse de paillasse pour tubes 0,5 mL et 1,5 mL
- Micropipettes
- Pointes de pipettes stériles résistantes aux aérosols
- Tubes de 0,5 mL et 1,5 mL (compatibles PCR)
- Tubes de 2,0 mL (pour prédilution des cellules de contrôle interne)

### *Pour le MagNA Pure 96 Instrument*

- Phosphate Buffered Saline (PBS) (Tampon phosphate salin) 1x
- MagNA Pure 96 Internal Control Tube (Tube de contrôle interne, Roche, réf. 06374905001)
- MagNA Pure 96 DNA et Viral NA Small Volume Kit (kit petit volume, Roche, réf. 06543588001)
- MagNA Pure 96 DNA et Viral NA Large Volume Kit (kit grand volume, Roche réf. 06374891001)
- MagNA Pure 96 System Fluid (external) (Système de fluide externe, Roche, réf. 06640729001)
- MagNA Pure 96 Processing Cartridge (Cartouche de traitement, Roche, réf. 06241603001)
- MagNA Pure 96 Pure tip 1000 µL (Embout, Roche, réf. 6241620001)
- MagNA Pure 96 Output Plate (plaque de sortie, Roche, réf. 06241611001)
- MagNA Pure Sealing Foil (feuille d'hermétisation, Roche, réf. 06241638001)

### *Pour l'instrument MICROLAB STARlet*

- Phosphate Buffered Saline (PBS) (Tampon phosphate salin) 1x
- STARMag 96 X 4 Universal Cartridge kit (384T) (Kit de cartouche universelle, Seegene, réf. 744300.4.UC384)
- Tubes de 2,0 mL

### *Pour l'instrument QIASymphony<sup>®</sup> SP*

- Phosphate Buffered Saline (PBS) (Tampon phosphate salin) 1x
- Cartouches de préparation d'échantillon, 8 puits (Qiagen, réf. 997002)
- Manchons 8 barreaux (Qiagen, réf. 997004)
- Pointes de filtre, 200 µL et 1500 µL (Qiagen, réf. 990332 et 997024)
- Tubes 2 mL (Sarstedt, réf. 72.639 ou 72.694)
- Tubes en polystyrène 14 mL (Corning, réf. 352051)
- Kit DSP Virus/Pathogen Mini (QIAGEN, Cat no 937036)

### *Pour le NucliSENS<sup>®</sup> easyMAG<sup>®</sup> instrument*

- Phosphate Buffered Saline (PBS) (Tampon phosphate salin) 1x
- NucliSENS<sup>®</sup> easyMAG<sup>®</sup> Lys BUffer 4 X 1 l (tampon lyse Biomérieux, réf. 280134)
- NucliSENS<sup>®</sup> easyMAG<sup>®</sup> Lysis Buffer 2 mL 48T (tampon lyse Biomérieux, réf. 200292)

- NucliSENS® easyMAG® Magnetic Silica (Silice magnétique, Biomerieux, réf. 280133)
- NucliSENS® easyMAG® Extraction buffer 1 (Tampon d'extraction 1, Biomerieux, réf. 280130)
- NucliSENS® easyMAG® Extraction buffer 2 (Tampon d'extraction 2, Biomerieux, réf. 280131)
- NucliSENS® easyMAG® Extraction buffer 3 (Tampon d'extraction 3, Biomerieux, réf. 280132)
- NucliSENS® easyMAG® Disposables (Jetables, Biomerieux, réf. 280135)

*Pour le LightCycler® 480 Instrument II et l'analyseur cobas z 480*

- **PlexPCR®** Colour Compensation (CC) kit (Kit de compensation de couleur, SpeedX, Cat no 90001)
- LightCycler® 480 Multiwell Plate 96 (plaque à 96 puits, Roche, réf. 04729692001)
- LightCycler® 480 Sealing Foil (feuille d'hermétisation, Roche, réf. 04729757001)

*Pour le système Applied Biosystems® 7500 Fast et le système 7500 Fast Dx*

- MicroAmp® Optical 96-well reaction plates (plaques de réaction à 96 puits, ThermoFisher Scientific, réf. 4316813)
- MicroAmp® Optical Adhesive Film (film optique adhésif, ThermoFisher Scientific, réf. 4360954)

*Pour le Bio-Rad CFX96™ Dx et le CFX96 Touch™ Real-time PCR Detection System*

- Multiplate™ 96-well PCR plates (plaques PCR à 96 puits, Bio-Rad, réf. MLP9601)
- Microseal® 'B' PCR Plate Sealing Film, adhesive, optical (film adhésif et optique d'hermétisation, Bio-Rad, réf. MSB1001)

*Dispositifs de prélèvement d'échantillons*

*Pour le Bio-Rad CFX96™ Dx et le CFX96 Touch™ Real-time PCR Detection System*

- Kit de prélèvement d'échantillons Multi-Collect (Abbott, Cat. n° 9K12-01)
- Kit de prélèvement d'urine Aptima® (Hologic, Cat. n° 301040)
- Kit de prélèvement d'échantillon par frottis unisexe Aptima® (Hologic, Cat. n° 301041)
- DeltaSwab ViCUM® 2 mL + écouvillon floqué standard (deltalab, Cat. n° 304278)
- Urine Vacumed® sans conservateur (FL medical, Cat. n° 44950)
- FLOQSwab™ standard dans 1 mL de milieu UTM™ (Copan Cat. n° 359C)
- Milieu cobas® PCR (Roche, Cat. n° 06466281190)

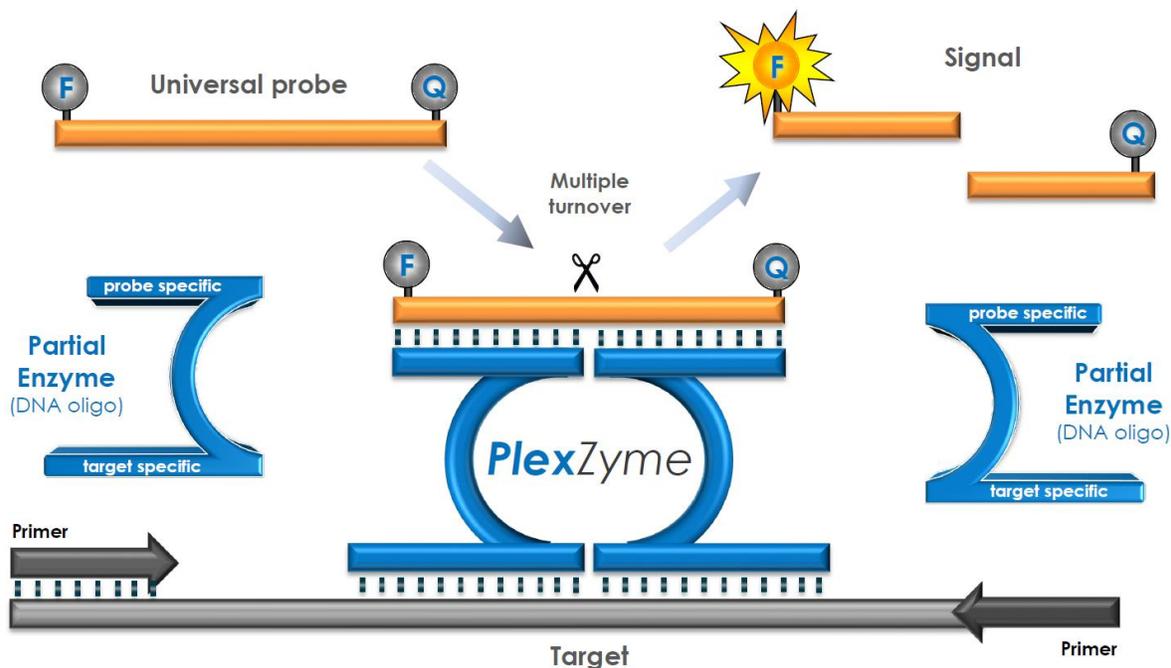
## 8 Principe technologique

La PCR en temps réel (qPCR) sert à amplifier et détecter les acides nucléiques de pathogènes spécifiquement ciblés. **PlexPCR<sup>®</sup>** est une technologie de qPCR utilisant les enzymes **PlexZyme<sup>®</sup>** qui détectent et signalent la présence du produit amplifié en générant un signal fluorescent (**Figure 1**). Les amorces **PlexPrime<sup>®</sup>** servent à l'amplification spécifique de séquences mutées, associée à la détection de mutations spécifiques avec **PlexZyme<sup>®</sup>** (**Figure 2**).

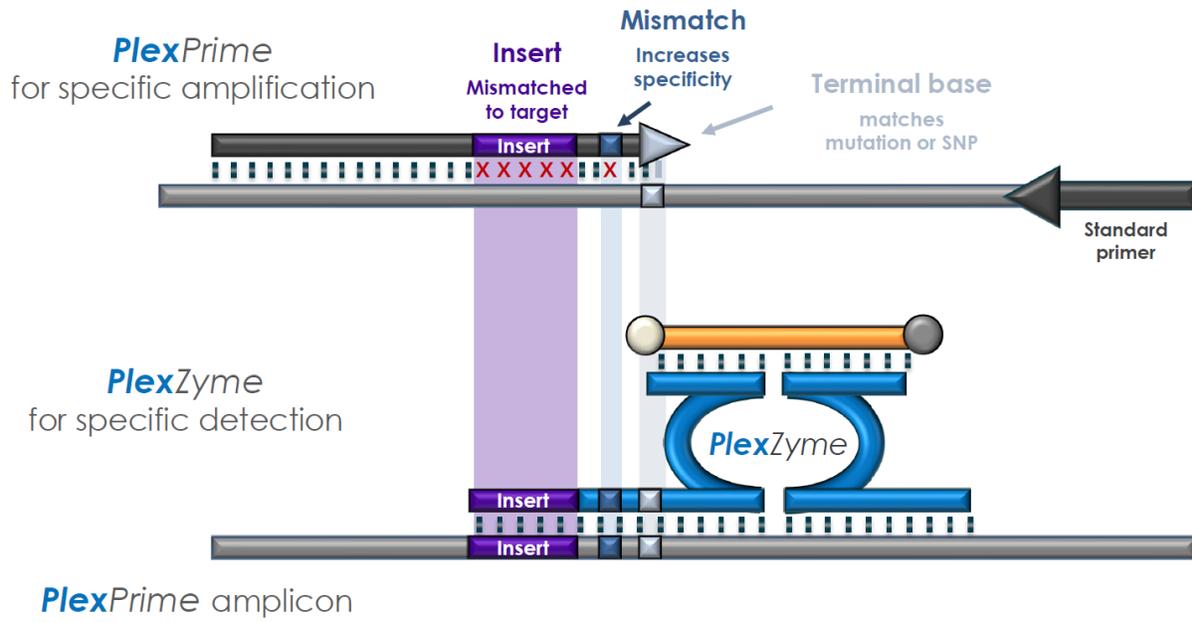
Les enzymes **PlexZyme<sup>®</sup>** sont des complexes ADN catalytiques composés de deux oligonucléotides d'ADN, appelés « enzymes partielles ». Chaque enzyme partielle possède une région spécifique à la cible, un noyau catalytique et un région universelle de liaison à la sonde. En présence du produit cible, les deux enzymes partielles se lient de manière adjacente afin de former la **PlexZyme<sup>®</sup>** active, qui possède l'activité nécessaire pour cliver une sonde marquée. Ce clivage sépare le fluophore et les quenchers, produisant un signal fluorescent qui peut être surveillé en temps réel. Les enzymes **PlexZyme<sup>®</sup>** offrent davantage de spécificité que les autres technologies de détection, étant donné que la liaison de deux enzymes partielles est nécessaire pour permettre la détection. Les enzymes **PlexZyme<sup>®</sup>** sont également des enzymes à renouvellement multiple, il est donc possible de cliver plusieurs sondes lors de chaque cycle de PCR, ce qui aboutit à un signal fort et sensible. Les tests **PlexZyme<sup>®</sup>** sont hautement sensibles et spécifiques. Ils sont idéalement adaptés à la détection multiplexée d'agents pathogènes.

Les amorces **PlexPrime<sup>®</sup>** possèdent trois régions fonctionnelles. La région 5' longue ancre l'amorce à une région spécifique, tandis que la région 3' courte cible de manière sélective l'extension à partir de la base mutante. Une séquence d'insertion se situe entre les régions 5' et 3' et agit comme une structure de liaison qui insère une séquence indépendante de la cible dans l'amplicon résultant, augmentant ainsi la pression sélective de la région 3'. Dans le multiplexe, chaque amorce **PlexPrime<sup>®</sup>** est conçue pour cibler une base mutante spécifique et intègre une séquence d'insertion unique, produisant ainsi des séquences d'amplicon mutant distinctes. Contrairement aux autres technologies de détection par sonde, l'enzyme **PlexPrime<sup>®</sup>** peut être superposée à l'amorce **PlexZyme<sup>®</sup>** pour cibler l'amplicon mutant spécifique contenant la base mutante et la séquence d'insertion incorporée. Cette association unique de sondes **PlexPrime<sup>®</sup>** et d'enzymes **PlexZyme<sup>®</sup>** permet l'amplification spécifique de séquences mutantes ainsi que la détection sensible et spécifique dans le multiplexe.

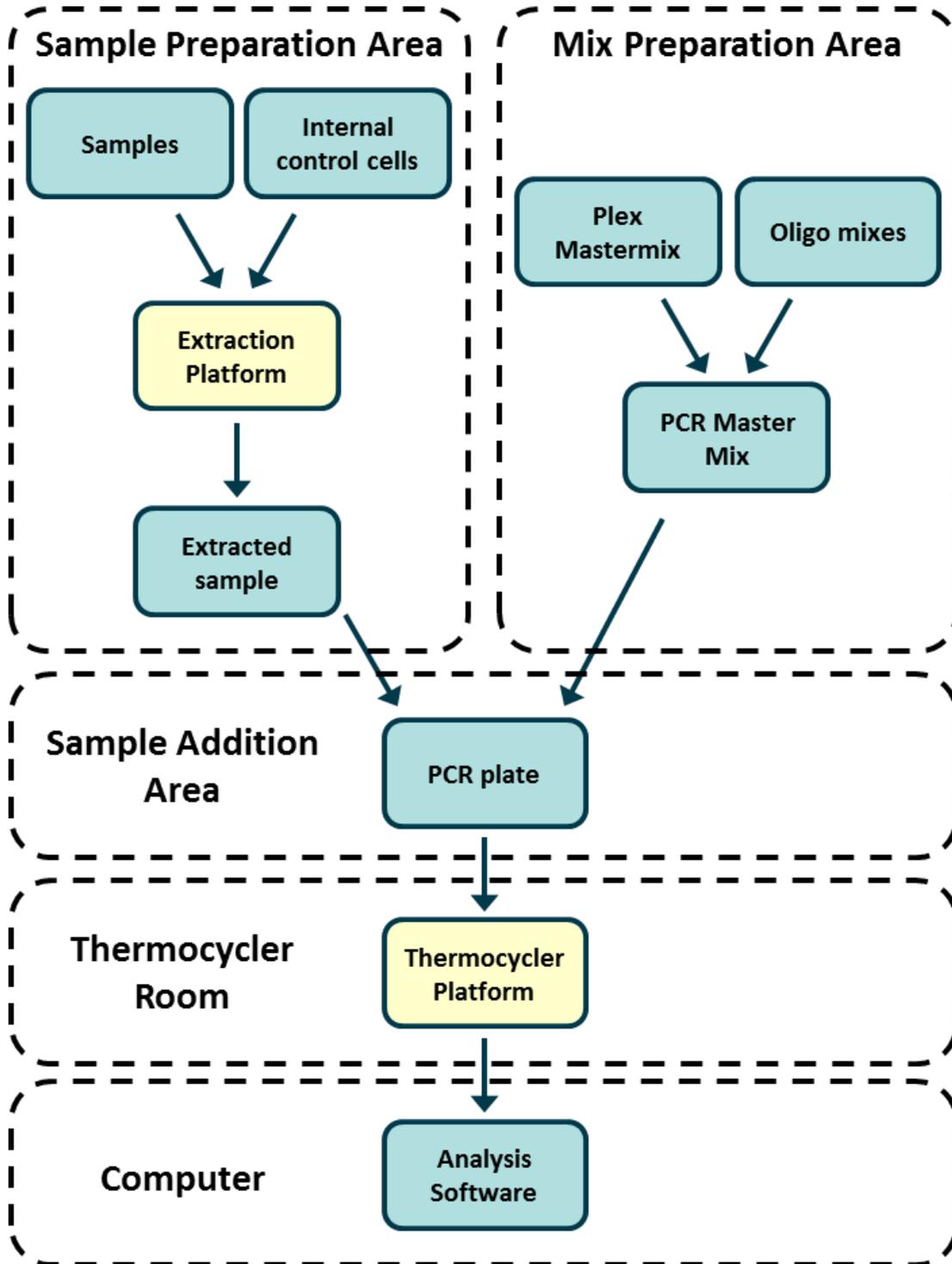
**Figure 1. Représentation schématique de la détection et de la signalisation universelle par *PlexZyme<sup>®</sup>***



**Figure 2. Représentation schématique de l'amorce *PlexPrime*<sup>®</sup> associée à la détection par *PlexZyme*<sup>®</sup>. L'amorce *PlexPrime*<sup>®</sup> amplifie spécifiquement la séquence mutante et les enzymes *PlexZyme*<sup>®</sup> détectent spécifiquement l'amplicon.**



9 Aperçu de la procédure



## 10 Procédure détaillée

**Remarque** : les réactifs fournis sont indiqués en italiques, suivis de la couleur du capuchon entre parenthèses.

### 10.1 Prélèvement, transport et conservation des échantillons

Les échantillons d'urine masculine et féminine et de frottis vaginaux, prélevés auprès de patients symptomatiques ou non, doivent être prélevés, transportés et conservés conformément aux techniques de laboratoire standard ou aux instructions qui accompagnent les kits de prélèvement.

#### 10.1.1 Dispositifs validés pour le prélèvement des échantillons

En cas de prélèvement, de conservation ou de transport inadéquat ou inapproprié des échantillons, les résultats du test risquent d'être faussés. Il est fortement recommandé d'être dûment formé au prélèvement d'échantillons afin de garantir leur qualité et leur stabilité.

Les dispositifs de prélèvement d'échantillons validés pour le kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG sont énumérés ci-dessous, avec quelques conseils relatifs aux instructions du fabricant du dispositif en matière de prélèvement, de manipulation et de transport. Ces conseils n'ont pas vocation à remplacer ou dépasser les instructions du fabricant. Se référer systématiquement aux instructions de prélèvement fournies par le fabricant du dispositif afin d'appliquer les méthodes appropriées.

Avant tout prélèvement, les membres dûment formés du personnel doivent s'assurer de bien comprendre le dispositif et la méthodologie. Il convient de vérifier au minimum les éléments suivants : types d'échantillons, volume suffisant, procédure(s), matériel nécessaire pour le prélèvement, préparation du patient et instructions de manipulation et de conservation.

#### 10.1.2 Prélèvement, transport et conservation des échantillons d'urine pure

1. Pour le prélèvement autonome d'urine par le patient, il est conseillé d'utiliser un flacon stérile spécialement prévu à cet usage, ne contenant aucun conservateur ni milieu de transport.
2. Le patient doit recueillir 20 à 50 ml de ses premières urines émises, puis fermement reboucher ou revisser le capuchon.
3. Il est recommandé d'emballer doublement le flacon d'urine lors de son transport, en utilisant des lingettes absorbantes. La température de conservation de l'urine dépend des temps de traitement prévus.

#### 10.1.3 Prélèvement, transport et conservation des frottis secs

Les échantillons vaginaux peuvent être prélevés par frottis sec, réalisé par le médecin ou la patiente. Les méthodes de prélèvement étant variables, consulter la notice fournie par le fabricant.

#### 10.1.4 Prélèvement, transport et conservation d'échantillons prélevés à l'aide d'un kit multi-Collect Specimen Collection Kit (Abbott, n° réf. 9K12-01)

Les instructions pour le prélèvement et le transport d'échantillons d'urine et de frottis vaginaux prélevés à l'aide d'un kit multi-Collect Specimen Collection Kit (Abbott, n° réf. 9K12-01) sont résumées ci-dessous.

##### 10.1.4.1 Prélèvement, transport et conservation des échantillons d'urine

1. Le patient doit s'abstenir d'uriner pendant au moins une heure avant le prélèvement de l'échantillon.
2. Éliminer l'écouvillon : il n'est pas requis pour le prélèvement d'urine.
3. Le patient doit prélever les 20 à 30 premiers millilitres des urines émises (première partie du jet) dans un flacon prévu à cet usage.
4. Dévisser le capuchon du tube de transport en faisant attention à ne pas renverser le tampon de transport qu'il contient.
5. Manipuler soigneusement le capuchon et le tube afin d'éviter toute contamination.
6. Transférer l'urine du flacon de prélèvement dans le tube de transport à l'aide de la pipette de transfert en plastique, jusqu'à atteindre le niveau indiqué par la fenêtre transparente de l'étiquette sur le flacon de transport. Si cela n'est pas possible, prélever un nouvel échantillon. Ne pas sur-remplir. Il pourrait être nécessaire d'exercer un peu plus d'une pression complète sur le bulbe de la pipette de transfert pour obtenir le volume d'urine requis.
7. Reboucher soigneusement le tube de transport. Vérifier que le tube est fermement bouché.
8. Apposer une étiquette adhésive d'identification de l'échantillon, mentionnant la date de prélèvement, sur le tube de transport. Faire attention à ne pas cacher la fenêtre de remplissage sur le tube de transport.
9. Après le recueil, transporter et conserver le tube de transport à une température comprise entre 2 et 30 °C pendant une durée maximale de 14 jours. Si une conservation plus longue est nécessaire, conserver à une température de 10 °C ou moins pendant 90 jours maximum.

#### 10.1.4.2 Prélèvement, transport et conservation des échantillons de frottis vaginaux

1. Éliminer la pipette de transfert jetable : elle n'est pas requise pour le prélèvement d'un frottis vaginal.
2. Retirer l'écouvillon stérile de son emballage, en faisant attention à ne pas toucher l'embout de l'écouvillon et à ne le poser sur aucune surface.
3. Insérer l'embout blanc de l'écouvillon dans l'ouverture du vagin à une profondeur de 5 cm environ.
4. Pivoter délicatement l'écouvillon pendant 15 à 30 secondes contre les parois du vagin.
5. Retirer doucement l'écouvillon.
6. Manipuler soigneusement le capuchon et le tube afin d'éviter toute contamination.
7. Dévisser le capuchon du tube de transport et placer immédiatement l'écouvillon dans le tube, l'embout blanc vers le bas.
8. Casser soigneusement l'écouvillon au niveau de la ligne marquée sur la tige, en faisant attention à ne pas déverser le contenu.
9. Reboucher le tube de transport. Vérifier que le tube est fermement bouché.
10. Apposer une étiquette adhésive d'identification de l'échantillon, mentionnant la date de prélèvement, sur le tube de transport.
11. Après le recueil, transporter et conserver le tube de transport à une température comprise entre 2 et 30 °C pendant une durée maximale de 14 jours. Si une conservation plus longue est nécessaire, conserver à une température de 10 °C ou moins pendant 90 jours maximum.

#### 10.1.5 Prélèvement, transport et conservation des kits pour prélèvement d'urine Aptima® (Hologic, n° réf. 301040)

Les instructions de prélèvement et de transport des échantillons d'urine masculine et féminine avec les kits de prélèvement d'urine Aptima® sont résumées ci-dessous (Hologic, n° réf. 301040). Veuillez noter que les performances cliniques de ce dispositif de prélèvement ont été démontrées uniquement sur des échantillons extraits sur l'instrument MagNA Pure 96, en utilisant le kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Large Volume. Voir les rubriques 10.2 et 16.1.5 pour plus d'informations.

1. Pour le prélèvement autonome d'urine par le patient, il est conseillé d'utiliser un flacon stérile spécialement prévu à cet usage, ne contenant aucun conservateur ni milieu de transport.
2. Indiquer au patient de prélever 20 à 30 mL des premières urines émises dans le flacon de prélèvement. Les patientes de sexe féminin ne doivent pas faire de toilette intime (région labiale) avant de prélever l'échantillon.
3. Utiliser le matériel inclus dans le kit de prélèvement d'urine Aptima® pour transférer 2 ml d'urine à l'aide de la pipette dans le tube de transport débouché. Le niveau d'urine doit être compris entre les lignes de remplissage noires indiquées sur le tube de transport. L'urine doit être transférée du flacon à urine stérile transparent au tube à essai Aptima dans les 24 heures qui suivent le prélèvement.
4. Reboucher fermement le tube de transport.
5. Après le prélèvement, les échantillons d'urine traités contenus dans les tubes de transport Aptima doivent être transportés et conservés à une température comprise entre 2 et 30 °C jusqu'à analyse. Pour plus d'informations sur les conditions optimales de conservation, voir les instructions du fabricant.

#### 10.1.6 Prélèvement, transport et conservation des kits pour écouvillonnage Aptima® Multitest (Hologic, n° réf. PRD-03546)

Les instructions pour le prélèvement et le transport de frottis vaginaux prélevés à l'aide d'un kit pour écouvillonnage Aptima® Multitest (Hologic, n° réf. PRD-03546) sont résumées ci-dessous. Veuillez noter que les performances cliniques de ce dispositif de prélèvement ont été démontrées uniquement sur des échantillons extraits sur l'instrument MagNA Pure 96, en utilisant le kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Large Volume. Voir les rubriques 10.2 et 16.1.5 pour plus d'informations.

##### 10.1.6.1 Prélèvement, transport et conservation des échantillons de frottis vaginaux

1. Ouvrir partiellement l'emballage de l'écouvillon. Retirer l'écouvillon. Ne pas toucher l'embout doux ni poser l'écouvillon. Si l'embout tombe ou s'il est posé ou touché, utiliser un nouveau kit Aptima Multitest.
2. Maintenir l'écouvillon en plaçant l'index et le pouce au milieu de la tige, de manière à couvrir la ligne indiquée. Ne pas tenir la tige de l'écouvillon en-dessous de cette ligne.
3. Insérer doucement l'écouvillon dans le vagin, jusqu'à une profondeur d'environ 5 cm après l'introitus, et pivoter délicatement dans les sens horaire pendant 10 à 30 secondes. S'assurer que l'écouvillon touche les parois du vagin, de manière à ce qu'il absorbe l'humidité présente, puis retirer l'écouvillon sans toucher la peau.
4. Dévisser le capuchon du tube tout en maintenant l'écouvillon sans le changer de main. Ne pas renverser le contenu du tube. Si le contenu du tube se renverse, utiliser un nouveau kit pour écouvillonnage Aptima Multitest.
5. Placer immédiatement l'écouvillon dans le tube de transport, de manière à ce que la ligne se trouve en haut du tube.
6. Casser soigneusement la tige de l'écouvillon au niveau de la ligne en appuyant contre la paroi du tube.
7. Jeter immédiatement la partie supérieure de la tige.
8. Reboucher fermement le tube. Après le recueil, transporter et conserver l'écouvillon dans son tube de transport à une température comprise entre 2 et 30 °C, jusqu'à analyse.

#### 10.1.7 Prélèvement, transport et conservation des kits DeltaSwab ViCUM® 2 mL + écouvillon floqué standard (deltalab, n° réf. 304278)

Les instructions pour le prélèvement et le transport de frottis vaginaux prélevés à l'aide d'un kit DeltaSwab ViCUM® 2 mL + écouvillon floqué standard (deltalab, n° réf. 304278) sont résumées ci-dessous.

1. Ouvrir le sachet en tirant vers des côtés opposés à l'aide deux mains.
2. Agiter doucement le tube.
3. Ouvrir le sachet à soufflet et prélever l'échantillon à l'aide de l'écouvillon.
4. Ouvrir le tube avec l'autre main et placer l'écouvillon à l'intérieur, de sorte qu'il soit immergé dans le milieu.
5. Aligner la partie cassable de l'écouvillon avec la partie supérieure du tube en exerçant une légère pression vers le bas sur l'écouvillon. Casser l'écouvillon au niveau de la cassure en l'appuyant sur le rebord interne du tube.
6. Jeter le morceau de tige restant, revisser fermement le capuchon et remuer l'échantillon afin de le diluer dans le milieu.
7. Après le recueil, transporter et conserver l'écouvillon dans son tube de transport à une température comprise entre 4 et 25 °C, jusqu'à analyse.

#### 10.1.8 Prélèvement, transport et conservation des flacons Vacumed® Urine sans conservateur (FL medical, n° réf. 44950)

Les instructions de prélèvement et de transport des échantillons d'urine masculine et féminine avec les flacons de prélèvement Vacumed® Urine sans conservateur (FL medical, n° réf. 44950).

1. Ouvrir le capuchon du flacon à urine et le poser à l'envers sur une surface propre.
2. Ne pas toucher les surfaces internes du flacon et du capuchon.
3. Recueillir l'échantillon d'urine. Remplir le flacon aux ¾ de sa capacité.
4. Remettre le capuchon en place et le serrer fermement en tournant dans le sens horaire.
5. Remuer doucement l'échantillon.
6. Soulever partiellement l'étiquette de protection (ne pas l'enlever entièrement).
7. Insérer le tube à essai en exerçant une légère pression. Le tube doit rester connecté jusqu'à ce qu'il soit plein (fin du débit).
8. Retirer le tube à essai et recoller intégralement l'étiquette de protection.
9. Conserver le tube à essai à une température de 4 à 25 °C, jusqu'à analyse.

#### 10.1.9 Prélèvement, transport et conservation des kits Regular FLOQSwab™ dans 1 mL de milieu UTM™ (Copan, n° réf. 359C)

Les instructions pour le prélèvement et le transport de frottis vaginaux prélevés à l'aide d'un kit Regular FLOQSwab™ dans 1 ml de milieu UTM™ (Copan, n° réf. 359C) sont résumées ci-dessous.

1. Ouvrir l'emballage du kit UTM et retirer le tube à essai contenant le milieu ainsi que la pochette interne contenant l'écouvillon stérile.
2. Retirer l'écouvillon stérile de la pochette et prélever l'échantillon clinique. S'assurer que l'embout de l'écouvillon entre en contact uniquement avec le site de prélèvement afin d'éviter tout risque de contamination.
3. Une fois l'échantillon recueilli, dévisser et retirer le capuchon du tube à essai en prêtant attention à ne pas renverser le milieu.
4. Insérer l'écouvillon dans le tube à essai, jusqu'à ce que la cassure soit au même niveau que l'ouverture du tube.
5. Plier et casser l'écouvillon au niveau de la cassure, en gardant le tube à essai à l'écart du visage, et jeter la partie en excès.
6. Revisser le capuchon sur le tube à essai et le sceller hermétiquement.
7. Traiter l'échantillon contenu dans l'UTM dans les 48 heures suivant le prélèvement, en conservant le tube à essai à une température comprise entre 2 et 25 °C.
8. Passer à l'agitateur vortex pendant 20 secondes avant traitement afin de favoriser la libération de l'échantillon par l'écouvillon et d'homogénéiser le milieu.

#### 10.1.10 Prélèvement, transport et conservation des milieux PCR cobas® (Roche, n° réf. 06466281190)

Les instructions de prélèvement et de transport des échantillons d'urine masculine et féminine dans le milieu PCR cobas® (Roche, n° réf. 06466281190) sont résumées ci-dessous.

1. Mélanger et transférer l'urine dans le tube de milieu PCR cobas® à l'aide d'une pipette jetable (non fournie). Remarque : l'urine peut être conservée à une température comprise entre 2 °C et 30 °C pendant 24 heures maximum avant transfert dans le tube de milieu PCR cobas®.
2. Le volume d'urine nécessaire est atteint lorsque son niveau est compris entre les deux lignes noires marquées sur l'étiquette du tube.
3. Reboucher fermement le tube de milieu PCR cobas®.
4. Retourner le tube à 5 reprises pour mélanger. L'échantillon est prêt pour le transport et l'analyse.
5. Transporter et conserver le tube de milieu PCR cobas® contenant l'urine stabilisée à une température comprise entre 2 °C et 30 °C.

### 10.1.11 Extraits d'échantillon validés

Les extraits d'échantillon dont l'utilisation a été validée sont les suivants:

- cobas® x480 (protocole CT/NG)

Voir la **rubrique 10.5** pour les instructions de préparation de la PCR avec les acides nucléiques extraits (flux de travail « reflex »).

## 10.2 Traitement des échantillons

Le kit **ResistancePlus®** MG a été validé sur les instruments d'extraction énumérés dans le **Tableau 4**.

Voir la **rubrique 10.3** pour les instructions d'utilisation du contrôle interne.

Tableau 4. Protocoles d'extraction validés				
Instrument	Kit d'extraction	Volume d'échantillon	Protocole	Volume de dilution
MagNA Pure 96 <sup>a</sup>	Kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume	200 µL	Pathogen Universal 200	50 µL ou 100 µL
MagNA Pure 96 <sup>a</sup>	Kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Large Volume	1 000 µL <sup>^</sup>	Viral NA Universal LV 1000 3.1	100 µL
MICROLAB STARlet IVD <sup>b</sup>	Kit STARMag 96 x 4 Universal Cartridge (Seegene)	200 µL	Ajout de 10 µl de cellules de contrôle interne par échantillon Sélectionner « Pause before PCR setup » (Mise en pause avant paramétrage de la PCR) pour réaliser uniquement l'extraction d'échantillon	100 µL
QIASymphony SP <sup>c</sup>	Kit DSP Virus/Pathogen Mini	200 µL	Complex200_V6_DSP	110 µL
NucliSENS® easyMAG <sup>d</sup>	Réactifs NucliSENS® easyMAG®	Écouvillon de 200 µL	Generic 2.01; Flux de travail « On-board »	100 µL
		1 000 µL d'urine	Generic 2.01; Flux de travail « Off-board »	100 µL

<sup>a</sup> Voir la rubrique 10.3.1 pour les instructions d'utilisation du contrôle interne avec MagNA Pure 96

<sup>b</sup> Voir la rubrique 10.3.2 pour les instructions d'utilisation du contrôle interne avec STARlet IVD

<sup>c</sup> Voir la rubrique 10.3.3 pour les instructions d'utilisation du contrôle interne avec QIASymphony SP

<sup>d</sup> Voir la rubrique 10.3.4 pour les instructions d'utilisation du contrôle interne avec NucliSENS® easyMAG®

<sup>^</sup> Les performances cliniques des échantillons prélevés au moyen du kit urinaire Aptima® (Hologic, n° réf. 301040), du kit d'écouvillonnage unisexe Aptima® (Hologic, n° réf. 301041) et du kit d'écouvillonnage Aptima® Multitest (Hologic, n° réf. PRD-03546) ont été démontrées uniquement pour ce protocole d'extraction. Voir la rubrique 16.1.5 pour plus d'informations.

## 10.3 Cellules de contrôle interne (CI)

Ce kit comprend un contrôle interne pour surveiller l'efficacité de l'extraction et l'inhibition par qPCR. Le test de contrôle interne se présente sous la forme du **mélange de contrôle (BLANC)** et des **cellules de contrôle interne (ROUGE)**. Le **mélange de contrôle** est ajouté au mastermix PCR (**Tableau 11**). Les **cellules de contrôle interne** contiennent le modèle ADN de contrôle interne. Les **cellules de contrôle interne** sont diluées et traitées comme détaillé ci-dessous, en fonction des différents instruments d'extraction. Le modèle ADN de contrôle interne est donc extrait en même temps que l'échantillon et co-amplifié pendant la réaction.

### 10.3.1 Contrôle interne sur MagNA Pure 96

Diluer les *cellules de contrôle interne (ROUGE)* à 1 pour 200 dans 1x PBS (**Tableau 5**). Ajuster le volume comme requis en appliquant le même facteur de dilution (voir le manuel du kit d'extraction afin de déterminer le volume minimal pour le nombre désiré d'échantillons). Les cellules de contrôle interne diluées sont chargées dans le tube de contrôle interne de MagNA Pure 96:

- Pour le kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume (protocole Pathogen Universal 200), un volume de 20 µL est automatiquement ajouté à chaque échantillon (par défaut).
- Pour le kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Large Volume (protocole Viral NA Universal LV 1000 3.1), l'échantillon est divisé et traité dans deux puits séparés de la cartouche MagNA Pure 96 Processing Cartridge. Au total, 40 µL de cellules de contrôle interne diluées sont automatiquement ajoutés à chaque échantillon (20 µL par puits de la cartouche de traitement).

**Remarque:** NE PAS conserver les cellules de contrôle interne diluées.

Tableau 5. Dilution des cellules de contrôle interne sur MagNA Pure 96 (dilution à 1:200)			
Cellules de contrôle interne (ROUGE) (µL)	1x PBS (µL)	Volume total (µL)	Volume ajouté à l'échantillon (µL)
18	3582	3600	20

### 10.3.2 Contrôle interne sur MICROLAB STARlet IVD

Diluer les *cellules de contrôle interne (ROUGE)* à 1 pour 20 dans 1x PBS (**Tableau 6**). Ajuster le volume comme requis en appliquant le même facteur de dilution (voir le manuel du kit d'extraction afin de déterminer le volume minimal pour le nombre désiré d'échantillons). Les cellules de contrôle interne diluées sont chargées dans un tube de 2 mL et placées sur le plateau de réactifs, 10 µL étant automatiquement ajoutés à chaque échantillon.

**Remarque:** NE PAS conserver les cellules de contrôle interne diluées.

Tableau 6. Dilution des cellules de contrôle interne sur MICROLAB STARlet IVD (dilution à 1:20)			
Cellules de contrôle interne (ROUGE) (µL)	1x PBS (µL)	Volume total (µL)	Volume ajouté à l'échantillon (µL)
50	950	1000	10

### 10.3.3 Contrôle interne sur QIAAsymphony® SP

Diluer les *cellules de contrôle interne (ROUGE)* à 1 pour 50 dans 1x PBS (**Tableau 7**). Ajuster le volume comme requis en appliquant le même facteur de dilution, en fonction du nombre désiré d'échantillons.

**Remarque:** NE PAS conserver les cellules de contrôle interne diluées.

Tableau 7. Dilution des cellules de contrôle interne sur QIAAsymphony® SP (dilution à 1:50)		
Cellules de contrôle interne (ROUGE) (µL)	1x PBS (µL)	Volume total (µL)
40	1950	2000

Les *cellules de contrôle interne* diluées sont ensuite utilisées pour préparer un mélange contrôle interne + ARN porteur + tampon AVE, comme montré dans le **Tableau 8** ci-dessous. Ajuster le volume comme requis en appliquant le même facteur de dilution en fonction du nombre désiré d'échantillons (voir le manuel du kit d'extraction afin de déterminer le volume minimal pour le nombre désiré d'échantillons). Le mélange contrôle interne + ARN porteur + tampon AVE doit être préparé immédiatement avant de commencer l'analyse.

Le mélange contrôle interne + ARN porteur + tampon AVE est ajouté à un tube qui est placé sur un support de tube et chargé dans l'emplacement A du tiroir à tubes de QIAAsymphony® SP. Par défaut, 120 µL de mélange sont ajoutés à chaque échantillon.

Tableau 8. Préparation du mélange contrôle interne + ARN porteur + tampon AVE pour QIAAsymphony SP					
Type de tube	Nombre d'échantillons	Volume de cellules de CI diluées (µL)	ARN porteur (µL)	Tampon AVE (µL)	Volume total (µL)
-	1	10	3	107	120
2 ml	1 + volume vide <sup>^</sup>	40	12	428	480
14 ml	1 + volume vide <sup>#</sup>	60	18	642	720

<sup>^</sup> Pour un tube de 2 mL, 3 échantillons supplémentaires (360 µL) sont nécessaires pour tenir compte du volume vide.

<sup>#</sup> Pour un tube de 14 mL, 5 échantillons supplémentaires (600 µL) sont nécessaires pour tenir compte du volume vide.

#### 10.3.4 Contrôle interne sur easyMAG<sup>®</sup>

Diluer les *cellules de contrôle interne (ROUGE)* à 1 pour 200 dans 1x PBS (**Tableau 9**). Ajuster le volume comme requis en appliquant le même facteur de dilution. Préparer un « pré-mélange » de cellules de contrôle interne diluées et de silice magnétique NucliSENS<sup>®</sup> easyMAG<sup>®</sup> pour le nombre désiré d'échantillons (**Tableau 10**). Chaque échantillon nécessite 100 µL de pré-mélange de silice.

**Remarque:** NE PAS conserver les cellules de contrôle interne diluées.

Tableau 9. Dilution des cellules de contrôle interne sur NucliSENS <sup>®</sup> easyMAG <sup>®</sup> (dilution à 1:200)			
Cellules de contrôle interne (ROUGE) (µL)	1x PBS (µL)	Volume total (µL)	Facteur de dilution
10	1990	2000	200

Tableau 10. Pré-mélange de silice magnétique NucliSENS <sup>®</sup> easyMAG <sup>®</sup> et de cellules de contrôle interne diluées			
Nombre d'échantillons	Volume de cellules de CI diluées (µL)	Volume de silice magnétique (µL)	Volume ajouté à l'échantillon (µL)
1	50	50	100

En fonction du type d'échantillon, le flux de travail « on-board » ou « off-board » sera utilisé. Le flux de travail « off-board » est utilisé pour une récupération optimale d'acide nucléique dans les échantillons d'urine. Voir le manuel d'utilisateur NucliSENS<sup>®</sup> easyMAG<sup>®</sup> pour plus d'informations.

#### Flux de travail « on-board » (écouvillons)

Transférer les échantillons dans les récipients à échantillons.

Transférer les récipients sur easyMAG.

Programmer les requêtes d'extraction suivantes :

Protocol: Generic 2.0.1 (pour la version 2.0 du logiciel)

Matrix: Other

Volume (mL): 0,200

Eluate (µL): 100 µL

Type: Primary

Après la lyse on-board, ajouter 100 µL de pré-mélange de silice à chaque échantillon.

Poursuivre le processus d'extraction.

### Flux de travail « off-board » (urine)

Centrifuger brièvement le tube de tampon de lyse NucliSENS et ajouter 1 000 µL d'urine. Vortexer le tube.

Laisser le mélange reposer à température ambiante pendant 10 minutes.

Après la lyse, transférer les lysats dans les récipients à échantillon et les charger sur easyMAG.

Ajouter 100 µL de pré-mélange de silice à chaque échantillon.

Programmer les requêtes d'extraction suivantes :

Protocol: Generic 2.0.1 (pour la version 2.0 du logiciel)

Matrix: Other

Volume (mL): 1000

Eluate (µL): 100 µL

Type: Lysed

Poursuivre le processus d'extraction.

#### **10.4 Préparation de la PCR en temps réel**

**Remarque :** décongeler entièrement les réactifs et les mélanger soigneusement en les passant brièvement à l'agitateur vortex avant utilisation.

Voir **Tableau 1 - Tableau 3** pour la description du contenu des kits.

##### 10.4.1 Préparation du mastermix

Préparer le mastermix comme détaillé dans le **Tableau 11**.

Pour une réaction d'un volume de 20 µL, 15 µL de mastermix et 5 µL d'échantillon sont nécessaires. Pipeter le mastermix sur le plateau PCR, puis ajouter l'échantillon extrait à la réaction.

Un contrôle sans modèle (NTC, no template control) doit être inclus à chaque cycle d'analyses. Pour la réaction NTC, ajouter de l'eau sans nucléase (**INCOLORE**) à la place de l'échantillon.

Sceller le plateau, centrifuger et transférer dans le thermocycleur.

Tableau 11. Master Mix		
Réactif	Concentration	Volume pour une réaction de 20 µL (µL)
Eau sans nucléase ( <b>INCOLORE</b> )	S.O.	3,0
<b>Plex</b> Mastermix ( <b>BLEU</b> )	2 x	10,0
Mélange MG+23S ( <b>MARRON</b> )	20 x	1,0
Mélange de contrôle* ( <b>BLANC</b> )	20 x	1,0
Volume total (µL)		15,0
Ajouter 5 µL d'échantillon pour un volume final de 20 µL.		

\* Le mélange de contrôle inclus à chaque kit est spécifique à l'instrument utilisé ; voir **Tableau 1 – Tableau 3** pour déterminer le mélange de contrôle à utiliser

##### 10.4.2 Stabilité du mastermix

Le mastermix peut être préparé par lots et conservé à une température de -20 °C pendant 4 semaines au maximum, ou 4 °C pendant 1 semaine maximum.

### 10.5 Préparation de la PCR avec des acides nucléiques extraits (flux de travail « reflex »)

Les extraits d'acides nucléiques obtenus sans ajout de cellules de contrôle interne (**ROUGE**) aux échantillons peuvent être testés à l'aide du kit **ResistancePlus® MG**.

Cette procédure s'applique uniquement aux extraits qui:

ont déjà été analysés à l'aide d'une autre plateforme de test en suivant les instructions d'utilisation fournies par le fabricant, avec un résultat valide.

Le mastermix doit être préparé en suivant les instructions de la **rubrique 10.4.1**. En cas de test en flux reflex, le contrôle interne est absent de l'extrait d'échantillon. Il convient toutefois d'inclure le mélange de contrôle comme décrit dans la rubrique **10.4.1**.

Voir **Tableau 1 - Tableau 3** pour la description du contenu des kits.

Préparer le mélange pour la réaction comme détaillé dans le **Tableau 11**. Pour une réaction d'un volume de 20 µL, 15 µL de mastermix et 5 µL d'échantillon sont nécessaires. Pipeter le mastermix sur le plateau PCR, puis ajouter l'échantillon extrait à la réaction.

Un contrôle sans modèle (NTC, no template control) doit être inclus à chaque cycle d'analyses. Pour la réaction NTC, ajouter de l'eau sans nucléase (**INCOLORE**) à la place de l'échantillon. Sceller le plateau, centrifuger et transférer dans le thermocycleur.

## 11 Paramétrage et analyse

Pour plus d'informations sur le paramétrage et l'analyse, voir les **rubriques 19 - 23**.

Le kit **ResistancePlus® MG** possède trois canaux de détection pour *M. genitalium*, les mutations affectant l'ARNr 23SA et le contrôle interne (**Tableau 12**).

Le logiciel REFLEX **ResistancePlus® MG** se restreint à l'analyse de résultats correspondant aux extraits d'acides nucléiques obtenus en ajoutant des *cellules de contrôle interne (ROUGE)* aux échantillons.

Pour les extraits d'acides nucléiques obtenus sans ajout de cellules de contrôle interne (**ROUGE**) aux échantillons, utiliser le logiciel REFLEX **ResistancePlus® MG**. Le logiciel REFLEX **ResistancePlus® MG** possède deux canaux de détection pour *M. genitalium* et les mutations affectant l'ARNr 23S (Error! Reference source not found.).

*Cette procédure s'applique uniquement aux extraits qui :*

*ont déjà été analysés à l'aide d'une autre plateforme de test en suivant les instructions d'utilisation fournies par le fabricant, avec un résultat valide.*

**Tableau 12. Canaux pour les cibles de ResistancePlus® MG**

Instrument	Canal A	Canal B	Canal C
	Détection de <i>M. genitalium</i> (MgPa)	Mutations affectant l'ARNr 23S	Contrôle interne
LC480 II	465-510	533-580	533-640
z 480	465-510	540-580	540-645
7500 Fast et 7500 Fast Dx	FAM	JOE	TAMRA
CFX96 Dx et CFX Touch	FAM	HEX	Quasar 705

**Tableau 13. Canaux pour les cibles de *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG, flux de travail « reflex »**

Instrument	Canal A	Canal B
	Détection de <i>M. genitalium</i> (MgPa)	Mutations affectant l'ARNr 23S
LC480 II	465-510	533-580
z 480	465-510	540-580
7500 Fast et 7500 Fast Dx	FAM	JOE
CFX96 Dx et CFX Touch	FAM	HEX

## 12 Interprétation des résultats

Le logiciel d'analyse *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG est nécessaire pour l'analyse des données. Bien que les amorces *PlexPrime*<sup>®</sup> offrent une spécificité supérieure à celle des autres amorces allèles-spécifiques, une certaine amplification non spécifique peut être observée dans les tests de détection des mutations affectant l'ARNr 23S lorsque l'échantillon présente une concentration élevée en ARNr 23S de *M. genitalium* de type sauvage. Le logiciel d'analyse *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG automatise l'interprétation des résultats de l'amplification et simplifie le flux de travail. Pour les instructions d'utilisation du logiciel d'analyse, voir la **rubrique 24**.

Voir le **Tableau 14** pour déterminer le logiciel d'analyse adapté à chaque instrument de PCR en temps réel. Le logiciel d'analyse peut être fourni sur demande. Contactez [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour plus d'informations.

**Tableau 14. Logiciel d'analyse *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG**

N° réf.	Logiciel d'analyse*	Instrument de PCR en temps réel
99003	<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (LC480)	LC480 II
99018	<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (z 480)	z 480
99002	<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (7500)	7500 Fast et 7500 Fast Dx
99008	<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (CFX)	CFX96 Dx et CFX96 Touch
99023	REFLEX <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (LC480)	LC480 II
99024	REFLEX <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (z480)	z 480
99026	REFLEX <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (7500)	7500 Fast et 7500 Fast Dx
99025	REFLEX <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (CFX)	CFX96 Dx et CFX96 Touch

\* Consultez le site Internet <https://plexpcr.com/products/sexually-transmitted-infections/resistanceplus-mg/#resources> pour vous assurer d'utiliser la version la plus récente du logiciel d'analyse.

## 13 Limitations

- Le test **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG détecte le gène *MgPa* de *M. genitalium* et les mutations aux positions 2058 et 2059 du gène codant l'ARNr 23S (A2058G, A2059G, A2058T et A2058C, numération d'*E. coli*), associées à la résistance à l'azithromycine (antibiotique de la famille des macrolides).
- La réaction croisée du test **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG avec *M. genitalium* et les séquences mutantes A2059C affectant l'ARNr 23S a été démontrée.
- Les études de performances cliniques réalisées avec **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG, résumées dans la rubrique 16.1, comprennent des tests réalisés sur de l'urine masculine et féminine ainsi que sur des frottis vaginaux. D'autres types d'échantillons ont également été testés, notamment des écouvillons rectaux, cervicaux, endocervicaux, urétraux, péniers, du méat pénien et pharyngés. Toutefois, les données en faveur de l'utilisation de ces types d'échantillons sont limitées à ce jour.
- Le test **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG doit être réalisé exclusivement par des professionnels dûment formés à la procédure et conformément aux présentes instructions d'utilisation.
- La fiabilité des résultats dépend du transport, de la conservation et du traitement adéquats des échantillons. Le non-respect des procédures à l'une de ces étapes peut entraîner des résultats erronés.
- Le test **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG est un test qualitatif qui ne fournit pas de valeurs quantitatives ni d'informations sur la charge organique.
- Les résultats des tests doivent être corrélés aux antécédents médicaux, aux données épidémiologiques, aux résultats biologiques et aux autres informations à disposition du médecin.
- La prévalence de *M. genitalium* et la résistance aux macrolides se répercute sur les valeurs prédictives positives et négatives du test.
- La détection de marqueurs de résistance aux antibiotiques n'est pas forcément liée à l'expression phénotypique d'un gène.
- Compte tenu du fait que les acides nucléiques peuvent rester présents après un traitement antimicrobien approprié, les résultats du test ne permettent pas de prédire l'échec ou la réussite thérapeutique.
- Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection et peut découler d'une procédure erronée de prélèvement d'échantillon, d'une erreur technique, de la présence d'inhibiteurs, d'une confusion entre échantillons ou d'un faible nombre d'organismes dans l'échantillon clinique.
- Un dépistage de marqueurs de résistance négatif ne garantit pas la sensibilité des micro-organismes détectés ; en effet, des marqueurs de résistance non mesurés par le test ou d'autres mécanismes potentiels d'antibiorésistance peuvent être présents.
- Des résultats faux positifs sont possibles en cas de contamination croisée avec les organismes cibles, leurs acides nucléiques ou le produit amplifié.

## 14 Contrôle qualité

Le kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG comprend un contrôle interne pour surveiller l'efficacité de l'extraction et l'inhibition par qPCR (rubrique 10.3).

Lors du test en flux reflex, les cellules de contrôle interne du kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG n'ont pas été ajoutées au cours du processus d'extraction. Le test en flux reflex peut uniquement être réalisé sur des échantillons déterminés comme étant valides à l'aide d'un autre système, garantissant que l'efficacité de l'extraction et l'inhibition par qPCR ont été surveillées.

Il est recommandé d'utiliser le kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Positive Control (n° réf. 95001) comme matériel de contrôle positif pour l'amplification de l'acide nucléique. Voir la rubrique 15 pour les instructions d'utilisation des **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG Positive Controls. Il est recommandé d'utiliser un échantillon négatif confirmé en tant que contrôle négatif.

## 15 Instructions d'utilisation de *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG Positive Control

Le kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG Positive Control contient du matériel de contrôle positif pour les mutations affectant l'ARNr 23S de *M. genitalium* et un ARNr 23S de *M. genitalium* de type sauvage (**Tableau 15**).

Tableau 15. Contenu du kit <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG Positive Control (n° réf. 95001)			
Couleur du capuchon	Contenu	Description	Quantité (10 réactions)
Incolore	MG, ARNr 23S de type sauvage	Modèle de contrôle positif pour la détection de <i>M. genitalium</i> , ARNr 23S de type sauvage	1 x 50 µL
Vert	MG, ARNr 23S A2058G	Modèle de contrôle positif pour la détection de <i>M. genitalium</i> , ARNr 23S avec mutation A2058G	1 x 50 µL
Rouge	MG, ARNr 23S A2059G	Modèle de contrôle positif pour la détection de <i>M. genitalium</i> , ARNr 23S avec mutation A2059G	1 x 50 µL
Bleu	MG, ARNr 23S A2058T	Modèle de contrôle positif pour la détection de <i>M. genitalium</i> , ARNr 23S avec mutation A2058T	1 x 50 µL
Jaune	MG, ARNr 23S A2058C	Modèle de contrôle positif pour la détection de <i>M. genitalium</i> , ARNr 23S avec mutation A2058C	1 x 50 µL

### 15.1 Instructions d'utilisation

Préparer les réactions qPCR comme décrit dans la **rubrique 10.4** en utilisant un contrôle positif comme échantillon.

Le logiciel d'analyse *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG est nécessaire pour l'analyse des données. Voir **rubrique 24.11** pour des exemples de résultats.

## 16 Caractéristiques de performance

### 16.1 Performances cliniques

#### 16.1.1 Étude clinique 1

Une étude prospective-rétrospective a été menée au Royal Women's Hospital (RWH), Melbourne, Australie. Les échantillons ont été prélevés entre mai et juin 2016. 144 échantillons ont été sélectionnés sur la base des résultats biologiques pour être inclus dans l'étude. Ces 144 échantillons comprenaient 84 échantillons d'urine masculine, 33 échantillons d'urine féminine, 14 frottis vaginaux et 13 frottis cervico-vaginaux. Afin de déterminer les performances du kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG, les résultats de la détection de *M. genitalium* ont été comparés aux résultats d'analyses biologiques obtenus à l'aide d'un dépistage d'ARNr 16S par qPCR selon une méthode bien établie, utilisée par le RWH pour les diagnostics de routine<sup>2</sup>; la détection de la mutation ARNr 23S a également été comparée à un séquençage de Sanger<sup>3</sup>. Le kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG a été analysé sur LC480 II après extraction d'échantillon sur instrument MagNA Pure 96 à l'aide d'un kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume selon le protocole Universal Pathogen 200. Pour la détection de *M. genitalium*, une référence composite a été utilisée pour les échantillons aberrants en utilisant une troisième réaction qPCR ciblant le gène MgPa<sup>3</sup>. Pour la détection de l'ARNr 23S mutant, le résultat obtenu par séquençage de Sanger a été considéré comme véridique. Les résultats résolus ainsi que la sensibilité et la spécificité du kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG pour la détection de *M. genitalium* et de l'ARNr 23S mutant sont indiqués dans le **Tableau 16**. Deux échantillons ont été exclus en raison de résultats non valides au contrôle interne (1 échantillon d'urine féminine et 1 d'urine masculine). L'analyse de la détection de la mutation affectant l'ARNr 23S a porté uniquement sur les échantillons pour lesquels le statut de la mutation a pu être déterminé. L'analyse des résultats en fonction du type d'échantillon est présentée dans le **Tableau 17**. L'analyse des mutations affectant l'ARNr 23S est présentée dans le **Tableau 18**.

Tableau 16. Évaluation clinique du kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG (étude clinique 1)

		Détection de <i>M. genitalium</i> par qPCR, ARNr 16S		Détection de l'ARNr 23S mutant Séquençage		
		Résultat positif	Résultat négatif	Mutant	Type sauvage	
<b>ResistancePlus</b> <sup>®</sup> MG	Résultat positif	83	0	Mutant détecté	52	2
	Résultat négatif	1	58 <sup>^</sup>	Mutant non détecté	2	21
<b>Sensibilité</b>		98,8 % (IC à 95 % : 93,5-100,0 %)		<b>Sensibilité</b>		96,3 % (IC à 95 % : 87,3-99,6 %)
<b>Spécificité</b>		100,0 % (IC à 95 % : 93,8-100,0 %)		<b>Spécificité</b>		91,3 % (IC à 95 % : 72,0-98,9 %)

IC à 95 % : intervalle de confiance à 95 % ; Mutant : mutation affectant l'ARNr 23S aux positions A2058G, A2059G, A2058T et A2058C (numérotation d'*E. coli*) ; Type sauvage : absence de mutation sur ces positions

<sup>^</sup> Le kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG a détecté 1 résultat vrai négatif pour *M. genitalium* en utilisant une référence composite ; le tableau indique les résultats résolus

**Tableau 17. Analyse des résultats cliniques en fonction des échantillons\* (étude clinique 1)**

Échantillon	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : négatif	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : ARNr 23S type sauvage	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : ARNr 23S mutant
Urine masculine	28/28	8/10 <sup>1</sup>	41/42 <sup>1</sup>
Urine féminine	12/13	11/11	4/6 <sup>2</sup>
Frottis vaginal	8/8	1/1	2/2 <sup>3</sup>
Frottis cervico-vaginal	9/9	1/1	4/4 <sup>4</sup>

Mutant : mutation affectant l'ARNr 23S aux positions A2058G, A2059G, A2058T et A2058C (numération d'*E. coli*) ; Type sauvage : absence de mutation sur ces positions

^ 2 échantillons d'urine féminine, 3 échantillons d'urine masculine et 1 frottis vaginal ont été exclus en raison d'un échec du séquençage et de l'impossibilité de déterminer le statut de la mutation

<sup>1</sup> Urine masculine : 2 erreurs de qualification de *M. genitalium* en type sauvage suite à la détection de *M. genitalium* mutant, 18 A2058G, 20 A2059G et 3 A2058T correctement détectés ; 1 erreur de qualification en A2058G suite à la non-détection de *M. genitalium*

<sup>2</sup> Urine féminine : 1 A2058G, 3 A2059G correctement détectés ; 2 erreurs de qualification en A2059G suite à la détection de *M. genitalium* sans mutation

<sup>3</sup> Frottis vaginal : 2 A2059G correctement détectés

<sup>4</sup> Frottis cervico-vaginal : 3 A2058G, 1 A2059G correctement détectés

**Tableau 18. Analyse des mutations affectant l'ARNr 23S de *M. genitalium* (étude clinique 1)**

Résultat de référence <sup>^</sup>	Résultat <i>ResistancePlus</i> ® MG
Type sauvage	21/33 <sup>1</sup>
A2058G	22/23 <sup>2</sup>
A2059G	26/28 <sup>3</sup>
A2058T	3/3

^ Uniquement pour les échantillons positifs à *M. genitalium*

<sup>1</sup> Type sauvage 2 erreurs de qualification pour des échantillons d'urine masculine suite à la détection de *M. genitalium* mutant

<sup>2</sup> A2058G : 1 erreur de qualification pour des échantillons d'urine masculine suite à l'absence de détection de *M. genitalium*

<sup>3</sup> A2059G : 2 erreurs de qualification pour des échantillons d'urine féminine suite à l'absence de détection de *M. genitalium* mutant

### 16.1.2 Étude clinique 2

Un sous-ensemble d'échantillons extraits issus de l'étude 1 ont été testés sur l'instrument ABI 7500 Fast. Les résultats ont été comparés aux résultats cliniques d'un dépistage d'ARNr 16S par qPCR (Twin 2011) et par séquençage de Sanger (Twin 2012). Les échantillons ayant donné des résultats aberrants pour la détection de *M. genitalium* ont été re-testés au moyen d'un dépistage d'ARNr 16S par qPCR (Twin 2011) en raison d'une suspicion de dégradation de l'échantillon. Les résultats résolus ainsi que la sensibilité et la spécificité du kit *ResistancePlus*® MG<sub>(550)</sub> pour la détection de *M. genitalium* et de l'ARNr 23S mutant sont indiqués dans le **Tableau 19**. L'analyse de la détection de la mutation affectant l'ARNr 23S a porté uniquement sur les échantillons pour lesquels le statut de la mutation a pu être déterminé.

Tableau 19. Évaluation clinique du kit <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG <sub>(550)</sub> (étude clinique 2)						
		Détection de <i>M. genitalium</i> par qPCR, ARNr 16S		Détection de l'ARNr 23S mutant Séquençage		
		Résultat positif	Résultat négatif	Mutant	Type sauvage	
<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG	Résultat positif	79	0 <sup>^</sup>	Mutant détecté	47	1
	Résultat négatif	2	43 <sup>#</sup>	Mutant non détecté	4	19
<b>Sensibilité</b>		97,5 % (IC à 95 % : 91,4-99,7 %)		<b>Sensibilité</b>		92,2 % (IC à 95 % : 81,1-97,8 %)
<b>Spécificité</b>		100,0 % (IC à 95 % : 91,8-100,0 %)		<b>Spécificité</b>		95,0 % (IC à 95 % : 75,1-99,9 %)

IC à 95 % : intervalle de confiance à 95 % ; Mutant : mutation affectant l'ARNr 23S aux positions A2058G, A2059G, A2058T et A2058C (numérotation d'*E. coli*) ; Type sauvage : absence de mutation sur ces positions

<sup>^</sup> Le kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG<sub>(550)</sub> a détecté 1 résultat vrai négatif pour *M. genitalium* en utilisant un test de référence ; le tableau indique les résultats résolus

<sup>#</sup> Le kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG<sub>(550)</sub> a détecté 10 résultats vrais négatifs pour *M. genitalium* en utilisant un test de référence ; le tableau indique les résultats résolus

### 16.1.3 Étude clinique 3

Une étude clinique rétrospective a été menée à Canterbury Health Laboratories (CHL), Christchurch, Nouvelle-Zélande, sur des échantillons caractérisés et archivés, datant de 2010-2016, prélevés au moyen du kit multi-Collect Specimen Collection (Abbott). Les 137 échantillons comprenaient 110 échantillons d'urine masculine, 11 échantillons d'urine féminine et 15 frottis vaginaux, 1 frottis vaginal/urétral et 1 frottis vaginal/cervical. Afin de déterminer les performances du kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG, les résultats de la détection de *M. genitalium* ont été comparés aux résultats d'analyses biologiques obtenus à l'aide d'un dépistage de MgPa par qPCR selon une méthode bien établie, utilisée par le CHL pour les diagnostics de routine (Jensen 2004) ; la détection de la mutation ARNr 23S a été comparée à un séquençage de Sanger (Jensen 2008). Le kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG a été analysé sur LC480 II après extraction d'échantillon sur instrument MagNA Pure 96 à l'aide d'un kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume selon le protocole Universal Pathogen 200. Pour la détection de *M. genitalium*, le dépistage de MgPa de routine a été renouvelé pour les échantillons aberrants. Pour la détection de l'ARNr 23S mutant, le résultat obtenu par séquençage de Sanger a été considéré comme véridique. La sensibilité et la spécificité du kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG pour la détection de *M. genitalium* et de l'ARNr 23S mutant sont indiquées dans le **Tableau 20**. Un échantillon a été exclu en raison d'un résultat non valide au contrôle interne. L'analyse de la détection de la mutation affectant l'ARNr 23S a porté uniquement sur les échantillons pour lesquels le statut de la mutation a pu être déterminé. L'analyse des résultats en fonction du type d'échantillon est présentée dans le **Tableau 21**. L'analyse des mutations affectant l'ARNr 23S est présentée dans le **Tableau 22**.

Tableau 20. Évaluation clinique du kit <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (étude clinique 3)						
		Détection de <i>M. genitalium</i> par qPCR, ARNr 16S		Détection de l'ARNr 23S mutant Séquençage		
		Résultat positif	Résultat négatif	Mutant	Type sauvage	
<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG	Résultat positif	76	0	Mutant détecté	52	1
	Résultat négatif	3	57 <sup>^</sup>	Mutant non détecté	5	19
<b>Sensibilité</b>		96,2 % (IC à 95 % : 89,3-99,2 %)		<b>Sensibilité</b>		91,2 % (IC à 95 % : 80,7-97,1 %)
<b>Spécificité</b>		100,0 % (IC à 95 % : 93,7-100,0 %)		<b>Spécificité</b>		95,0 % (IC à 95 % : 75,1-99,9 %)

IC à 95 % : intervalle de confiance à 95 % ; Mutant : mutation affectant l'ARNr 23S aux positions A2058G, A2059G, A2058T et A2058C (numérotation d'*E. coli*) ; Type sauvage : absence de mutation sur ces positions

<sup>^</sup> Le tableau répertorie les résultats résolus

Tableau 21. Analyse des résultats cliniques en fonction des échantillons (étude clinique 3)			
Échantillon	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : négatif	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : type sauvage	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : ARNr 23S mutant
Urine masculine	45/45	17/18 <sup>1</sup>	38/45 <sup>1</sup>
Urine féminine	4/4	1/1	6/6 <sup>2</sup>
Frottis vaginal	6/6	1/1	8/8 <sup>3</sup>
Frottis urétral/vaginal :	1/1	0/0	0/0
Frottis vaginal/cervical :	1/1	0/0	0/0

Mutant : mutation affectant l'ARNr 23S aux positions A2058G, A2059G, A2058T et A2058C (numérotation d'*E. coli*) ; Type sauvage : absence de mutation sur ces positions

<sup>1</sup> Urine masculine : 1 erreur de qualification de *M. genitalium* en type sauvage suite à la détection de *M. genitalium* mutant, 4 A2058G, 32 A2059G, 1 A2058T et 1 A2058C correctement détectés ; 1 erreur de qualification en A2058G et 1 en A2059G suite à la non-détection de *M. genitalium*, 3 erreurs de détection en A2058G et 2 en A2059G suite à l'absence de détection de *M. genitalium* mutant

<sup>2</sup> Urine féminine : 2 A2058G, 4 A2059G correctement détectés

<sup>3</sup> Frottis vaginal : 1 A2058G, 7 A2059G correctement détectés

Tableau 22. Analyse des mutations affectant l'ARNr 23S de <i>M. genitalium</i> (étude clinique 3)	
Résultat de référence <sup>^</sup>	Résultat <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG
Type sauvage	19/20 <sup>1</sup>
A2058G	7/10 <sup>2</sup>
A2059G	43/45 <sup>3</sup>
A2058T	1/1
A2058C	1/1

<sup>^</sup> Uniquement pour les échantillons positifs à *M. genitalium*

<sup>1</sup> Type sauvage 1 erreur de qualification pour un échantillon d'urine masculine suite à la détection de *M. genitalium* mutant

<sup>2</sup> A2058G : 3 erreurs de qualification pour des échantillons d'urine masculine suite à l'absence de détection de *M. genitalium* mutant

<sup>3</sup> A2059G : 2 erreurs de qualification pour des échantillons d'urine masculine suite à l'absence de détection de *M. genitalium* mutant

#### 16.1.4 Étude clinique 4

Une étude clinique rétrospective a été réalisée à l'hôpital universitaire Vall d'Hebron (HUVH), Barcelone, Espagne, afin d'évaluer les performances du kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG<sub>(675)</sub> pour la détection de *M. genitalium* et des mutations associées à la résistance à l'azithromycine dans des échantillons recueillis rétrospectivement entre décembre 2017 et avril 2018. Les frottis ont été prélevés au moyen de DeltaSwab ViCUM<sup>®</sup> (Deltalab, Espagne), tandis que les échantillons d'urine ont été recueillis au moyen de Vacumed<sup>®</sup> Urine (FL medical, Italie). Les 86 échantillons comprenaient 46 échantillons urinaires et 40 frottis vaginaux. Les échantillons ont été extraits sur STARlet IVD (Hamilton) et testés sur CFX96 Dx (Bio-Rad). Pour évaluer les performances du kit, la détection de *M. genitalium* a été comparée aux résultats obtenus avec Allplex<sup>™</sup> STI Essential (Seegene) et avec les kits *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG (SpeedX) sur LC480 II, aussi bien pour la détection de *M. genitalium* que pour le statut des mutations affectant l'ARNr 23S. La sensibilité et la spécificité du kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG<sub>(675)</sub> pour la détection de *M. genitalium* mutant par comparaison avec Allplex<sup>™</sup> STI Essential (Seegene) sont indiquées dans le **Tableau 23**. La sensibilité et la spécificité de *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG<sub>(675)</sub> par comparaison avec *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG sont présentées dans le tableau **Tableau 24**. L'analyse des résultats en fonction du type d'échantillon est présentée dans le **Tableau 25**.

Tableau 23. Comparaison du kit <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG <sub>(675)</sub> kit et d'Allplex <sup>™</sup> STI essentiel (étude clinique 4)			
		Détection de <i>M. genitalium</i>	
		Allplex <sup>™</sup> STI Essential	
		Résultat positif	Résultat négatif
<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG <sub>(675)</sub>	Résultat positif	40	0
	Résultat négatif	0	46
Sensibilité		100,0 % (IC à 95 % : 91,2-100,0 %)	
Spécificité		100,0 % (IC à 95 % : 92,3-100,0 %)	

Tableau 24. Évaluation clinique du kit <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG <sub>(675)</sub> (étude clinique 4)							
		Détection de <i>M. genitalium</i> <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (LC480 II)		Détection de l'ARNr 23S mutant <sup>#</sup> <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (LC480 II)			
		Résultat positif	Résultat négatif	Mutant détecté	Mutant non détecté		
<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG <sub>(675)</sub>	Résultat positif	40	0	Mutant détecté	20		
	Résultat négatif	0	46	Mutant non détecté	1		
Sensibilité		100,0 % (IC à 95 % : 91,2-100,0 %)		Sensibilité		100,0 % (IC à 95 % : 83,2-100,0 %)	
Spécificité		100,0 % (IC à 95 % : 92,3-100,0 %)		Spécificité		100,0 % (IC à 95 % : 83,2-100,0 %)	

IC à 95 % : intervalle de confiance à 95 % ; Mutant : mutation affectant l'ARNr 23S aux positions A2058G, A2059G, A2058T et A2058C (numérotation d' *E. coli*) ; Type sauvage : absence de mutation sur ces positions

<sup>#</sup> 1 échantillon, ayant obtenu un résultat de séquençage mixte (type sauvage/mutant), a été exclu de l'analyse

Tableau 25. Analyse des résultats cliniques en fonction des échantillons (étude clinique 4)			
Échantillon	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : négatif	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : ARNr 23S type sauvage	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : ARNr 23S mutant
Urine masculine	26/26	5/5	15/15
Frottis vaginal	20/20	15/15	5/5

#### 16.1.5 Étude clinique 5

Une étude clinique rétrospective a été réalisée au Royal Women's Hospital (RWH), Melbourne, Australie, sur des échantillons d'urine et des écouvillons prélevés à l'aide d'Aptima<sup>®</sup> entre juin et novembre 2017. Des échantillons patient assortis ont été recueillis sous forme d'urine pure (échantillon de routine) ou à l'aide du kit de prélèvement d'urine Aptima<sup>®</sup> (Hologic), ou bien sous forme d'écouvillon sec (échantillon de routine) ou à l'aide du kit d'écouvillonnage Aptima<sup>®</sup> Unisex Swab Specimen Collection (Hologic). Les 147 échantillons comprenaient 122 échantillons urinaires et 25 frottis vaginaux. Afin de déterminer les performances des échantillons prélevés avec Aptima<sup>®</sup> et analysés avec un kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG, la détection de *M. genitalium* et d'ARNr 23S mutant a été comparée aux résultats diagnostiques obtenus avec un kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG (SpeeDx) sur un échantillon de routine. Les échantillons prélevés avec Aptima<sup>®</sup> ont été analysés sur LC480 II après extraction d'échantillon sur instrument MagNA Pure 96 à l'aide d'un kit MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume selon le protocole Universal Pathogen 1000. Les résultats diagnostiques obtenus par le RWH sur échantillon assorti testé à l'aide d'un kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG (SpeeDx) ont été considérés comme véridiques pour *M. genitalium*. Pour la détection de l'ARNr 23S mutant, le résultat a été comparé au résultat diagnostique et au séquençage de Sanger.

La sensibilité et la spécificité du kit *ResistancePlus*<sup>®</sup>MG pour la détection de *M. genitalium* et de l'ARNr 23S mutant sont indiquées dans le **Tableau 26**. L'analyse de la détection de la mutation affectant l'ARNr 23S a porté uniquement sur les échantillons pour lesquels le statut de la mutation a pu être déterminé. L'analyse des résultats en fonction du type d'échantillon est présentée dans le **Tableau 27**.

Tableau 26. Évaluation clinique du kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG (étude clinique 5)

		Détection de <i>M. genitalium</i> <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (échantillon de routine)		Détection de l'ARNr 23S mutant <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (échantillon de routine)		
		Résultat positif	Résultat négatif	Mutant	Type sauvage	
<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (avec échantillon Aptima de 1 ml)	Résultat positif	77	3	Mutant détecté	51	0
	Résultat négatif	3	64	Mutant non détecté	2	24
<b>Sensibilité</b>		96,3 % (IC à 95 % : 89,4-99,2 %)		<b>Sensibilité</b>		96,2 % (IC à 95 % : 87,0-99,5 %)
<b>Spécificité</b>		95,5 % (IC à 95 % : 87,5-99,1 %)		<b>Spécificité</b>		100,0 % (IC à 95 % : 86,0-100,0 %)

Tableau 27. Analyse des résultats cliniques en fonction des échantillons (étude clinique 5)

Échantillon	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : négatif	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : type sauvage	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : ARNr 23S mutant
Urine	50/52 <sup>1</sup>	21/22 <sup>1</sup>	45/48 <sup>1</sup>
Frottis vaginal	14/15 <sup>2</sup>	3/4 <sup>2</sup>	6/6

Mutant : mutation affectant l'ARNr 23S aux positions A2058G, A2059G, A2058T et A2058C (numérotation d'*E. coli*) ; Type sauvage : absence de mutation sur ces positions

<sup>1</sup> Urine : 2 erreurs de qualification d'échantillons négatifs à *M. genitalium* en *M. genitalium* de type sauvage et mutant, respectivement ; 1 erreur de qualification de *M. genitalium* de type sauvage en échantillon négatif à *M. genitalium* ; 2 erreurs de *M. genitalium* mutants en *M. genitalium* de type sauvage ; 1 erreur de qualification de *M. genitalium* mutant en échantillon négatif à *M. genitalium*

<sup>2</sup> Frottis vaginal : 1 erreur de qualification d'échantillon négatif à *M. genitalium* en *M. genitalium* de type sauvage ; 1 erreur de qualification de *M. genitalium* de type sauvage en échantillon négatif à *M. genitalium*

#### 16.1.6 Étude clinique 6

Une étude rétrospective a été menée à l'University of Queensland Centre for Clinical Research (UQCCR), Australie, sur cobas<sup>®</sup> x480, avec des extraits d'échantillons d'urine et de frottis recueillis entre février 2017 et février 2019. Les échantillons étaient recueillis sous forme d'urine pure ou au moyen de kits de milieu PCR cobas<sup>®</sup>(Roche), puis extraits sur instrument cobas<sup>®</sup> x480 (cobas<sup>®</sup> 4800, Roche) en appliquant le protocole « Full Workflow » et « CT/NG », sans ajout de cellules de contrôle interne SpeedX. Les 109 échantillons comprenaient 10 frottis vaginaux, 5 frottis cervico-vaginaux, ainsi que 84 échantillons d'urine masculine et 10 échantillons d'urine féminine.

Afin de déterminer les performances du kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG<sub>(550)</sub> sur extraits cobas<sup>®</sup>, la détection de *M. genitalium* a été comparée aux résultats diagnostiques de routine (dépistage de MgPa par PCR (Trembizki *et al.*, 2017)) et la détection d'ARNr 23S mutant a été comparée au séquençage de Sanger. Les kits *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG<sub>(550)</sub> étaient analysés sur ABI 7500 Fast Dx. La sensibilité et la spécificité du kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG<sub>(550)</sub> pour la détection de *M. genitalium* et de l'ARNr 23S mutant sont indiquées dans le **Tableau 28**. L'analyse de la détection de la mutation affectant l'ARNr 23S a porté uniquement sur les échantillons pour lesquels le statut de la mutation a pu être déterminé. L'analyse des résultats en fonction du type d'échantillon est présentée dans le **Tableau 29**. L'analyse des mutations affectant l'ARNr 23S est présentée dans le **Tableau 30**.

Tableau 28. Évaluation clinique du kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG<sub>(550)</sub> (étude clinique 6)

		Détection de <i>M. genitalium</i> MgPa qPCR		Détection de l'ARNr 23S mutant Séquençage de Sanger	
		Résultat positif	Résultat négatif	Mutant	Type sauvage
<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG <sub>(550)</sub>	Résultat positif	54	0	Mutant détecté	37 <sup>^</sup>
	Résultat négatif	1	51	Mutant non détecté	0
Sensibilité		98,2 % (IC à 95 % : 90,3-100,0 %)		Sensibilité	
Spécificité		100,0 % (IC à 95 % : 93,0-100,0 %)		Spécificité	
				100,0 % (IC à 95 % : 80,5-100,0 %)	

<sup>^</sup> 1 échantillon vaginal a donné un résultat de séquençage mixte (type sauvage/A2059G) et a été correctement identifié comme mutant par le test *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG<sub>(550)</sub>

Tableau 29. Analyse des résultats cliniques en fonction des échantillons (étude clinique 6) <sup>#</sup>

Échantillon	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : négatif	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : ARNr 23S type sauvage	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : ARNr 23S mutant
Urine masculine	42/42	13/13	26/27 <sup>1</sup>
Urine féminine	6/6	1/1	3/3 <sup>2</sup>
Frottis vaginal	1/1	1/1	7/7 <sup>3^</sup>
Frottis cervico-vaginal	2/2	2/2	1/1 <sup>4</sup>

<sup>#</sup> 3 échantillons ont été exclus pour cause d'échec de séquençage et impossibilité de déterminer le statut 23S véridique, notamment 2 échantillons d'urine et 1 échantillon vaginal

<sup>1</sup> Urine masculine : 8 A2058G, 3 A2058T et 15 A2059G correctement identifiés ; 1 A2058T a été identifié par erreur comme absence de *M. genitalium*

<sup>2</sup> Urine féminine : 2 A2058G et 1 A2059G correctement identifiés

<sup>3</sup> Frottis vaginal : 3 A2058G, 2 A2058T et 1 A2059G correctement identifiés ; <sup>^</sup> 1 frottis vaginal a été identifié comme mixte type sauvage/A2059G

<sup>4</sup> Frottis cervico-vaginal : 1 A2059G correctement identifié

**Tableau 30. Analyse des mutations affectant l'ARNr 23S de *M. genitalium* (étude clinique 6)**

Résultat de référence <sup>^</sup>	Résultat <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG
Type sauvage	17/17
A2058G	13/13
A2059G	19/19 <sup>1</sup>
A2058T	5/5
A2058C	-

<sup>^</sup> Uniquement pour les échantillons positifs à *M. genitalium*
<sup>1</sup> A2059G : 1 frottis vaginal mixte type sauvage/A2059G correctement identifié comme *M. genitalium*, mutation 23S détectée

### 16.1.7 Étude clinique 7

Une étude clinique rétrospective a été réalisée par le Microbiological Diagnostic Unit Public Health Unit (MDU), Victoria, Australie, sur des écouvillons secs et des urines pures prélevées entre octobre 2018 et janvier 2019. Les échantillons comprenaient 19 frottis vaginaux, 2 frottis cervico-vaginaux et 44 échantillons d'urine.

Le kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG a été analysé sur LC480 II après extraction d'échantillon sur instrument QIASymphony SP (QIAGEN) à l'aide du kit DSP Virus/Pathogen Mini et du protocole Complex200\_V6\_DSP. Les résultats ont été comparés aux résultats diagnostiques de routine obtenus avec les kits *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG (SpeedX) sur des échantillons extraits sur instrument MagNA Pure 96 (MP96). Pour les résultats aberrants, un dépistage de l'ARNr 16S par qPCR (Twin 2011) a été réalisé pour la détection de *M. genitalium* et un séquençage de Sanger (Twin 2012) a été effectué pour la détection de l'ARNr 23S mutant. La sensibilité et la spécificité du kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG pour la détection de *M. genitalium* et de l'ARNr 23S mutant sont indiquées dans le **Tableau 31**. L'analyse de la détection de la mutation affectant l'ARNr 23S a porté uniquement sur les échantillons pour lesquels le statut de la mutation a pu être déterminé. L'analyse des résultats en fonction du type d'échantillon est présentée dans le **Tableau 32**.

**Tableau 31. Évaluation clinique du kit *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG (étude clinique 7)**

		Détection de <i>M. genitalium</i> <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (MP96)		Détection de l'ARNr 23S mutant <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (MP96)	
		Résultat positif	Résultat négatif	Mutant	Type sauvage
<i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG (QIASymphony SP)	Résultat positif	36	0	Mutant détecté	16 / 1
	Résultat négatif	1	27	Mutant non détecté	1 / 18
<b>Sensibilité</b>		97,3 % (IC à 95 % : 85,8-99,9 %)		<b>Sensibilité</b>	
<b>Spécificité</b>		100,0 % (IC à 95 % : 87,2-100,0 %)		<b>Spécificité</b>	
				94,1 % (IC à 95 % : 71,3-99,9 %)	
				94,7 % (IC à 95 % : 74,0-99,9 %)	

Tableau 32. Analyse des résultats cliniques en fonction des échantillons (étude clinique 7) *			
Échantillon	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : négatif	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : ARNr 23S type sauvage	Résultat attendu pour le dépistage de <i>M. genitalium</i> : ARNr 23S mutant
Urine masculine	17/17	9/9	12/14 <sup>1</sup>
Urine féminine	1/1	1/2 <sup>2</sup>	1/1
Frottis vaginal	8/8*	7/7	3/3
Frottis cervico-vaginal	1/1	1/1	-

\* 1 frottis vaginal a été exclus car il produisait des résultats non valides avec le kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG

<sup>1</sup> Urine masculine : 1 *M. genitalium* à ARNr 23S mutant a été identifié par erreur comme *M. genitalium* non détecté ; 1 *M. genitalium* à ARNr 23S mutant a été identifié par erreur comme *M. genitalium* détecté, mutation 23S non détectée

<sup>2</sup> Urine féminine : 1 échantillon identifié par erreur comme *M. genitalium* détecté, mutation ARNr 23S non détectée

## 16.2 Performances analytiques

### 16.2.1 Reproductibilité et répétabilité

La reproductibilité et la répétabilité du kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG sur LC480 II a été évaluée au moyen d'un modèle synthétique quantifié du gène MgPa de *M. genitalium* et des cibles ARNr 23S (A2058G, A2059G, A2058T et A2058C) à 10 000 et 3 x LOD copies par réaction avec 6 réplicats (sauf précision contraire). Les analyses ont été réalisées sur LC480 II.

Pour déterminer la variabilité entre les lots, deux lots étaient testés, les analyses étant réalisées sur la même machine et par le même opérateur (**Tableau 33**). Les deux lots ont affiché une bonne reproductibilité, avec un coefficient de variation (CV, %) compris entre 0,35 et 2,37 % pour toutes les cibles.

Tableau 33. Variabilité entre les lots				
	Valeur Cq moyenne	ÉCART-TYPE	%CV	Nb d'échantillons
MgPa, 10 000 copies	16,9	0,15	0,89	12/12
MgPa, 30 copies	25,5	0,52	2,05	12/12
A2058G, 10 000 copies	20,4	0,48	2,37	12/12
A2058G, 36 copies	27,8	0,43	1,54	12/12
A2059G, 10 000 copies	18,0	0,06	0,35	12/12
A2059G, 30 copies	25,6	0,50	1,94	12/12
A2058T, 10 000 copies	18,7	0,09	0,46	12/12
A2058T, 30 copies	26,2	0,30	1,14	12/12
A2058C, 10 000 copies	17,7	0,13	0,75	12/12
A2058C, 30 copies	25,4	0,29	1,15	12/12

Pour déterminer la variabilité d'un jour sur l'autre, les tests ont été réalisés pendant trois jours par un même opérateur sur une même machine (**Tableau 34**). Les trois cycles ont affiché une bonne reproductibilité entre les jours, avec un coefficient de variation compris entre 0,88 et 2,31 % pour toutes les cibles.

Tableau 34. Variabilité d'un jour sur l'autre				
	Valeur Cq moyenne	ÉCART-TYPE	%CV	Nb d'échantillons
MgPa, 10 000 copies	17,0	0,18	1,09	18/18
MgPa, 30 copies	25,6	0,59	2,31	18/18
A2058G, 10 000 copies	20,2	0,37	1,83	18/18
A2058G, 36 copies	27,9	0,51	1,84	18/18
A2059G, 10 000 copies	18,1	0,24	1,34	18/18
A2059G, 30 copies	25,7	0,32	1,23	18/18
A2058T, 10 000 copies	18,7	0,23	1,22	18/18
A2058T, 30 copies	26,3	0,31	1,17	18/18
A2058C, 10 000 copies	17,8	0,16	0,88	18/18
A2058C, 30 copies	25,5	0,31	1,22	18/18

Pour déterminer la variabilité entre les cycles, trois cycles de qPCR ont été comparés, réalisés le même jour par le même opérateur (Tableau 35). Les trois cycles ont affiché une bonne reproductibilité, avec un coefficient de variation compris entre 0,40 et 3,20 % pour toutes les cibles.

Tableau 35. Variabilité entre les cycles				
	Valeur Cq moyenne	ÉCART-TYPE	%CV	Nb d'échantillons
MgPa, 10 000 copies	17,0	0,07	0,40	18/18
MgPa, 30 copies	25,7	0,47	1,83	18/18
A2058G, 10 000 copies	19,8	0,63	3,20	18/18
A2058G, 36 copies	27,5	0,51	1,85	18/18
A2059G, 10 000 copies	18,4	0,11	0,61	18/18
A2059G, 30 copies	25,7	0,39	1,52	18/18
A2058T, 10 000 copies	18,7	0,22	1,18	18/18
A2058T, 30 copies	26,4	0,42	1,59	18/18
A2058C, 10 000 copies	17,8	0,08	0,46	18/18
A2058C, 30 copies	25,5	0,31	1,22	18/18

Pour déterminer la variabilité entre les opérateurs, deux cycles réalisés par deux opérateurs ont été comparés (Tableau 36). Les deux cycles réalisés par les deux opérateurs ont affiché une bonne reproductibilité, avec un coefficient de variation compris entre 0,54 et 1,62 % pour toutes les cibles.

Tableau 36. Variabilité entre les opérateurs				
	Valeur Cq moyenne	ÉCART-TYPE	%CV	Nb d'échantillons
<b>MgPa, 10 000 copies</b>	16,8	0,12	0,73	12/12
<b>MgPa, 30 copies</b>	25,3	0,41	1,61	12/12
<b>A2058G, 10 000 copies</b>	20,2	0,24	1,21	12/12
<b>A2058G, 36 copies</b>	27,9	0,45	1,62	12/12
<b>A2059G, 10 000 copies</b>	17,9	0,10	0,58	12/12
<b>A2059G, 30 copies</b>	25,5	0,39	1,53	12/12
<b>A2058T, 10 000 copies</b>	18,6	0,10	0,54	12/12
<b>A2058T, 30 copies</b>	26,1	0,31	1,20	12/12
<b>A2058C, 10 000 copies</b>	17,7	0,13	0,71	12/12
<b>A2058C, 30 copies</b>	25,2	0,27	1,06	12/12

Pour déterminer la variabilité entre les instruments, deux cycles réalisés sur deux machines par le même opérateur ont été comparés (**Tableau 37**). Les cycles réalisés sur les deux machines ont affiché une bonne reproductibilité, avec un coefficient de variation compris entre 0,30 et 2,62 % pour toutes les cibles.

Tableau 37. Variabilité entre les instruments				
	Valeur Cq moyenne	ÉCART-TYPE	%CV	Nb d'échantillons
<b>MgPa, 10 000 copies</b>	16,7	0,10	0,60	12/12
<b>MgPa, 30 copies</b>	25,4	0,67	2,62	12/12
<b>A2058G, 10 000 copies</b>	20,0	0,07	0,33	12/12
<b>A2058G, 36 copies</b>	27,8	0,51	1,82	12/12
<b>A2059G, 10 000 copies</b>	17,8	0,05	0,30	12/12
<b>A2059G, 30 copies</b>	25,3	0,36	1,41	12/12
<b>A2058T, 10 000 copies</b>	18,5	0,09	0,50	12/12
<b>A2058T, 30 copies</b>	25,9	0,30	1,16	12/12
<b>A2058C, 10 000 copies</b>	17,6	0,13	0,75	12/12
<b>A2058C, 30 copies</b>	25,3	0,36	1,44	12/12

Pour déterminer la variabilité intra-cycle, trois expériences ont été comparées, préparées séparément par le même opérateur, chaque cible étant analysée sur le même plateau (**Tableau 38**). Les trois expériences ont affiché une bonne reproductibilité, avec un coefficient de variation compris entre 0,57 et 3,12 % pour toutes les cibles.

Tableau 38. Variabilité intra-cycle				
	Valeur Cq moyenne	ÉCART-TYPE	%CV	Nb d'échantillons
<b>MgPa, 10 000 copies</b>	17,3	0,36	2,09	18/18
<b>MgPa, 30 copies</b>	25,9	0,81	3,12	18/18
<b>A2058G, 10 000 copies</b>	20,2	0,11	0,57	18/18
<b>A2058G, 36 copies</b>	28,0	0,65	2,31	18/18
<b>A2059G, 10 000 copies</b>	17,9	0,15	0,83	18/18
<b>A2059G, 30 copies</b>	25,8	0,38	1,46	18/18
<b>A2058T, 10 000 copies</b>	18,8	0,12	0,66	18/18
<b>A2058T, 30 copies</b>	26,8	0,38	1,41	18/18
<b>A2058C, 10 000 copies</b>	17,8	0,15	0,83	18/18
<b>A2058C, 30 copies</b>	25,5	0,36	1,41	18/18

### 16.2.2 Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG sur instrument LC480 II a été déterminée par la réalisation de dilutions en série limitées, en utilisant un modèle synthétique quantifié du gène MgPa de *M. genitalium* et des cibles ARNr 23S (A2058G, A2059G, A2058T et A2058C). La sensibilité de chaque cible a été déterminée comme le nombre de copies par réaction avec un taux de détection  $\geq 95\%$ , comme indiqué dans le **Tableau 39**.

Tableau 39. Sensibilité analytique	
	Sensibilité analytique (copies/réaction)
<b>MgPa</b>	10
<b>A2058G</b>	12
<b>A2059G</b>	10
<b>A2058T</b>	10
<b>A2058C</b>	10

### 16.2.3 Spécificité analytique

Cette étude a été réalisée en vue d'évaluer les performances du kit **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG en présence de concentrations élevées d'organismes non ciblés. Un panel de 65 micro-organismes (4 virus, 2 protozoaires, 4 champignons et 55 bactéries), représentatif des pathogènes ou de la flore généralement présente dans le système uro-génital ou très proche *M. genitalium*, a été évalué. Chaque souche bactérienne a été testée à une concentration de  $1 \times 10^6$  génomes/ml, sauf précision contraire. Les souches virales ont été testées à une concentration de  $1 \times 10^5$  génomes/ml, sauf précision contraire. Tous les autres organismes ont été testés aux concentrations indiquées. Tous les organismes ont été quantifiés par qPCR, excepté ceux quantifiés en tant qu'unités formant colonie (UFC) ou unités formant plaque (UFP) (**Tableau 40**). Tous les micro-organismes ont été testés à trois reprises. Tous les micro-organismes testés ont été dilués dans un milieu clinique négatif (urine ou frottis vaginal).

Les résultats ont permis de conclure qu'aucun de ces organismes n'entraîne de faux positifs dans les milieux cliniques négatifs à *M. genitalium* (**Tableau 40**).

Une analyse *in silico* a également été réalisée afin de vérifier si les oligonucléotides présents dans le test **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG sont susceptibles d'amplifier et de détecter les séquences d'acides nucléiques d'organismes non ciblés disponibles dans l'outil BLAST. Aucune interaction significative n'a été détectée.

Tableau 40. Micro-organismes soumis aux tests de spécificité analytique

Organisme	Concentration (génomés/mL)	Organisme	Concentration (génomés/mL)	Organisme	Concentration (génomés/mL)
<i>Actinomyces israelii</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	HIV-1 <sup>^</sup>	1 x 10 <sup>3</sup>	<i>Mycoplasma pirum</i> (2) <sup>*</sup>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Atopobium vaginae</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	HPV type 18 (cellules HeLa) <sup>^</sup>	1 x 10 <sup>5</sup>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (6) <sup>*</sup>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Bacterioides fragilis</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycoplasma primatum</i>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycoplasma salivarium</i>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Campylobacter jejuni</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Lactobacillus crispatus</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 <sup>5</sup>	<i>Lactobacillus jensenii</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Pentatrichomonas hominis</i> <sup>#</sup>	1 x 10 <sup>5</sup>
<i>Candida glabrata</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Lactobacillus vaginalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Candida parapsilosis</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Listeria monocytogenes</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Prevotella bivia</i>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Candida tropicalis</i>	1 x 10 <sup>5</sup>	<i>Mobiluncus curtisii</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Propionibacterium acnes</i>	1 x 10 <sup>5</sup>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1 x 10 <sup>5</sup>	<i>Proteus mirabilis</i>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Clostridium perfringens</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycoplasma alvi</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Proteus vulgaris</i>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycoplasma amphoriforme</i> (2) <sup>*</sup>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycoplasma arginini</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycoplasma buccale</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Enterococcus faecalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycoplasma fermentans</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	1 x 10 <sup>4</sup>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 <sup>6</sup>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycoplasma hominis</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Trichomonas vaginalis</i> <sup>#</sup>	1 x 10 <sup>5</sup>
<i>Haemophilus ducreyi</i>	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycoplasma lipophilum</i>	1 x 10 <sup>4</sup>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	1 x 10 <sup>5</sup>
Virus herpès simplex de type 1	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycoplasma orale</i>	1 x 10 <sup>6</sup>		
Virus herpès simplex de type 2	1 x 10 <sup>6</sup>	<i>Mycoplasma penetrans</i>	1 x 10 <sup>6</sup>		

\* le nombre entre parenthèses correspond au nombre de souches testées

<sup>^</sup> quantifié en tant qu'UFP/ml

<sup>#</sup> quantifié en tant qu'UFC/ml

#### 16.2.4 Substances potentiellement perturbatrices

Une étude des substances perturbatrices a été réalisée afin de vérifier si certaines substances ou conditions, pouvant se manifester dans les échantillons urinaires ou les frottis vaginaux, sont susceptibles d'affecter les performances du test **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG. Le panel était composé de substances endogènes telles que sang, mucine, leucocytes et médicaments (avec ou sans ordonnance) pouvant être utilisés dans le traitement de maladies uro-génitales. Toutes les substances ont été évaluées au moyen d'un contrôle interne qui permet de surveiller l'extraction et l'inhibition par qPCR. Tous les échantillons ont été testés à trois reprises. Les substances ont été diluées dans un milieu clinique négatif (urine ou frottis vaginal), en fonction des cas.

Les résultats ont indiqué qu'aucune des substances et conditions testées n'a interféré avec la détection du contrôle interne ni produit de faux positifs.

Les résultats sont résumés dans le **Tableau 41** et le **Tableau 42**.

Tableau 41. Substances potentiellement perturbatrices dans les échantillons d'urine		
Classe/substance	Nom du produit	Concentration testée
Sang total	--	1 % v/v
Sperme	--	5,0 % v/v
Mucus	Mucine	0,8 % p/v
Antibiotiques	Azithromycine	1,8 mg/mL
	Doxycycline	3,6 mg/mL
Antalgiques	Aspirine	40 mg/mL
	Paracétamol	3,2 mg/mL
Hormones intravaginales	--	Progestérone à 7 mg/mL + bêta-estradiol à 0,07 mg/mL
Leucocytes	--	10 <sup>5</sup> cellules/mL
Albumine	Albumine sérum bovin	10 mg/mL
Glucose	--	10 mg/mL
Urine acide (pH 4,0)	Urine + N-Acétyl-L-Cystéine	pH 4.0
Urine alcaline (pH 9,0)	Urine + citrate d'ammonium	pH 9.0
Bilirubine	--	1 mg/mL

Tableau 42. Substances potentiellement perturbatrices dans les échantillons de frottis vaginaux		
Classe/substance	Nom du produit	Concentration testée
Sang	--	60 % v/v
Liquide séminal	--	5,0 % v/v
Mucus	Mucine	0,8 % p/v
Produits vaginaux et contraceptifs sans ordonnance	Vagisil Anti-Itch Crème (1.0 oz)	0,25 % p/v
	K-Y Jelly (4.0 oz)	0,25 % p/v
	Options Gynol II Vaginal Contraceptive Gel	0,25 % p/v
	Walgreens Clotrimazole Vaginal Cream (1.5 oz)	0,25 % p/v
	Vagisil Sensitive Skin Formula Maximum Strength Anti-Itch Creme with Oatmeal (1.0 oz)	0,25 % p/v
	Vagisil ProHydrate Natural Feel Internal Moisturizing Gel (0.2 oz x 8 pack)	0,25 % p/v
	Vagisil Daily Intimate Deodorant Powder (8.0 oz)	0,25 % p/v
	Summer's Eve Medicated Douche	0,25 % v/v
Désodorisants et poudres	Summer's Eve Deodorant spray (2.0 oz)	0,25 % v/v
Crème anti-hémorroïdes	Preparation H Hemorrhoidal Cream (0.9 oz)	0,25 % p/v
Médicaments sur ordonnance	Metronidazole Vaginal Gel, 0.75%	0,25 % p/v
	Estrace® (estradiol vaginal cream, USP 0.01%)	0,25 % p/v
Leucocytes	--	10 <sup>5</sup> cellules/mL
Hormones intravaginales	--	Progesterone à 7 mg/mL + bêta-estradiol à 0,07 mg/mL

#### 16.2.5 Réactivité croisée avec les autres mutations affectant l'ARNr 23S

La réactivité croisée du kit **ResistancePlus**® MG a été évaluée en utilisant un modèle synthétique quantifié du gène MgPa de *M. genitalium* et des cibles ARNr 23S (A2059C) à raison de 10 000 et 45 copies par réaction. Les résultats ont indiqué une réactivité croisée du test **ResistancePlus**® MG avec la cible ARNr 23S A2059C avec un taux de détection de 100 %.

## 17 Service clients et assistance technique

Contactez l'assistance technique pour toute question relative à la configuration des réactions, aux conditions pour le cyclage et pour les autres demandes.

Tél. : +61 2 9209 4169, E-mail : [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au)

## 18 Références

1. Taylor-Robinson D, Jensen JS. *Mycoplasma genitalium*: from Chrysalis to multicolored butterfly. Clin Microbiol Rev. 2011;24:498–514.
2. Manhart LE, Broad JM, Golden MR. Mycoplasma genitalium: should we treat and how? Clin Infect Dis. 2011 Dec;53 Suppl 3:S129-42.
3. Cazanave C, Manhart LE, Bébéar C. Mycoplasma genitalium, an emerging sexually transmitted pathogen. Med Mal Infect. 2012 Sep;42(9):381-92
4. Jensen JS, Bradshaw CS, Tabrizi SN, Fairley CK, Hamasuna R. Azithromycin treatment failure in Mycoplasma genitalium-positive patients with nongonococcal urethritis is associated with induced macrolide resistance. Clin Infect Dis. 2008 Dec 15;47(12):1546-53.
5. Jensen JS. Chapter 8: Protocol for the Detection of Mycoplasma genitalium by PCR from Clinical Specimens and Subsequent Detection of Macrolide Resistance-Mediating Mutations in Region V of the 23S rRNA Gene in Diagnosis of Sexually Transmitted Diseases: Methods and Protocols, Methods in Molecular Biology, vol. 903, Science+Business Media New York 2012.
6. Bissessor M, Tabrizi SN, Twin J, Abdo H, Fairley CK, Chen MY, Vodstrcil LA, Jensen JS, Hocking JS, Garland SM, Bradshaw CS. Macrolide resistance and azithromycin failure in a Mycoplasma genitalium-infected cohort and response of azithromycin failures to alternative antibiotic regimens. Clin Infect Dis. 2015 Apr 15;60(8):1228-36.
7. Twin J, Taylor N, Garland SM, Hocking JS, Walker J, Bradshaw CS, Fairley CK, Tabrizi SN. Comparison of two Mycoplasma genitalium real-time PCR detection methodologies. J Clin Microbiol. 2011 Mar;49(3):1140-2.
8. Twin J, Jensen JS, Bradshaw CS, et al. Transmission and selection of macrolide resistant Mycoplasma genitalium infections detected by rapid high resolution melt analysis. PLoS One 2012; 7:e35593.
9. Jensen JS, Bjornelius E, Dohn B, Lidbrink P. Use of Taqman 5' nuclease real-time PCR for quantitative detection of Mycoplasma genitalium DNA in males with and without urethritis who were attendees at a sexually transmitted disease clinic. J Clin Microbiol. 2004 42:683-692.

**19 Annexe 1 : LightCycler® 480 instrument II**

Les informations suivantes sont basées sur le logiciel LightCycler® 480 (version 1.5).

Le kit **ResistancePlus®** MG contient des colorants pour le LightCycler® 480 Instrument II. Le kit **PlexPCR®** Colour Compensation (réf. 90001) doit être traité et appliqué pour l'analyse LC480 II (voir la **Section 19.2**). Ce kit peut être fourni sur demande.

**19.1 Programmation du LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II)**

**Format de détection**

Créer un Format de **détection personnalisé**

Ouvrir **Tools (Outils) > Detection Formats (Formats de détection)**

Créer un nouveau format de détection et le nommer « **SpeedX PlexPCR** » (peut être accompli durant la création du fichier SpeedX Colour Compensation [Compensation de couleur]) (voir la **Figure 3**).

Pour **Filter Combination Selection** (Sélection de combinaisons de filtres), sélectionner les plages suivantes (excitation-émission) :

**Tableau 43. Combinaisons de filtres<sup>^</sup>**

LC480 II	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660

<sup>^</sup> Ces combinaisons de filtres sont les noms par défaut des canaux

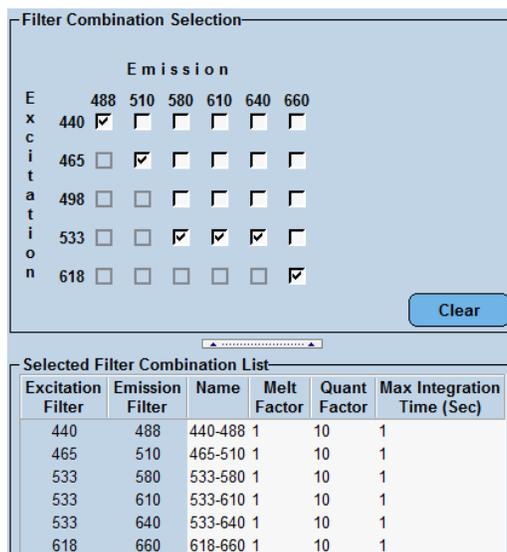
Régler **Selected Filter Combination List** (Liste des combinaisons de filtres sélectionnées) pour tous les canaux comme suit :

Melt Factor (Facteur de fusion) : 1

Quant Factor (Facteur de quantification) : 10

Max Integration Time (sec) (Temps d'intégration max (s)) : 1

**Figure 3. Format de détection SpeedX personnalisé**



**Paramètres de l'instrument**

Créer un Format de **détection personnalisé**

Ouvrir **Tools (Ouvrir Outils) > Instruments**

Sous **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument) > sélectionner **Barcode Enabled** (Code-barre activé)

### **Configuration expérimentale**

Sélectionner **New Experiment** (Nouvelle expérience)

Dans l'onglet **Run Protocol** (Protocole de la série)

Sous **Detection Format** (Format de détection), sélectionner le « **SpeedX PlexPCR** » personnalisé (**Figure 4**)

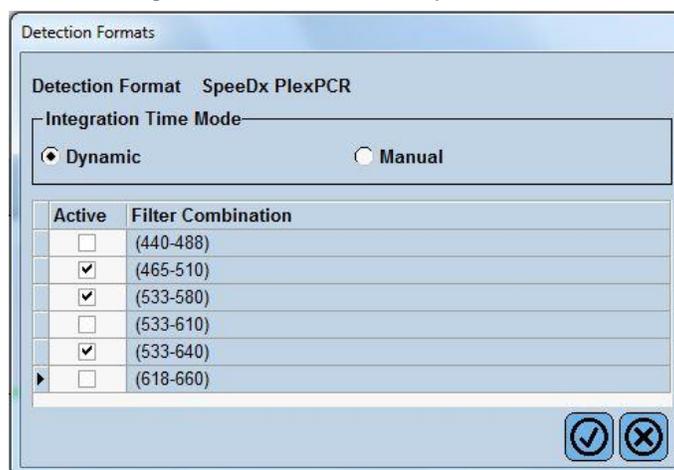
Sélectionner **Customize** (Personnaliser) >

Sélectionner **Integration Time Mode** > **Dynamic** (Mode Temps d'intégration > Dynamique)

Sélectionner les **Filter Combinations** (Combinaisons de filtres) actives, indiquées dans le **Tableau 44**

Tableau 44. Canaux pour les cibles <i>ResistancePlus</i> ® MG		
Détection de <i>M. genitalium</i> (MgPa)	Mutation de l'ARNr 23S	Contrôle interne
465-510	533-580	533-640

**Figure 4. Format de détection personnalisé**



Pour permettre la détection automatisée de l'échantillon dans le logiciel d'analyse, assigner des étiquettes d'identification aux puits sur la plaque

Ouvrir le module **Sample Editor** (Éditeur d'échantillon)

Sélectionner le puits

Modifier le **Sample Name** (Nom de l'échantillon) pour qu'il corresponde à l'étiquette d'identification définie dans le module de tests du logiciel d'analyse (voir la **Section 24.4**)

Les échantillons sont étiquetés sous la forme *Préfixe\_Suffixe* (comme présenté dans le **Tableau 45** et la **Figure 5**) p.ex. Pa\_MG

**REMARQUE** : les étiquettes d'identification des échantillons sont sensibles à la casse. L'étiquette d'identification doit correspondre exactement à celle assignée dans le fichier de série.

Tableau 45. Étiquettes d'identification d'échantillon pour le logiciel d'analyse			
Type d'échantillon	Préfixe (dans le logiciel d'analyse)	_Suffixe (dans le logiciel d'analyse)	Dénomination de l'échantillon (dans LC480)
Échantillon classique	S	_MG	S_MG
Contrôle négatif	N	_MG	N_MG
Contrôle positif (MG, ARNr 23S de type mutant) (Pa)	Pa	_MG	Pa_MG
Contrôle positif (MG, ARNr 23S de type sauvage) (Pb)	Pb	_MG	Pb_MG

Figure 5. Éditeur d'échantillon – Assignment d'étiquettes d'identification aux puits

Pos	Filter combination	Color	Repl Of	Sample Name
A12	465-510 (465-510)			S_MG
A12	533-580 (533-580)			S_MG
A12	533-640 (533-640)			S_MG
B12	465-510 (465-510)			Pa_MG
B12	533-580 (533-580)			Pa_MG
B12	533-640 (533-640)			Pa_MG
C12	465-510 (465-510)			Pb_MG
C12	533-580 (533-580)			Pb_MG
C12	533-640 (533-640)			Pb_MG
G8	465-510 (465-510)			N_MG
G8	533-580 (533-580)			N_MG
G8	533-640 (533-640)			N_MG

Régler **Reaction Volume** (Volume réactionnel) > 20 µL

Créer le programme suivant (présenté de manière plus détaillée de la **Figure 6** à la **Figure 9**) :

Tableau 46. Thermocycling Program (Programme de thermocyclage)				
Program name (Nom du programme)	Cycles	Target °C (Cible °C)	Hold (Temps d'arrêt)	Ramp Rate (Vitesse de rampe) (°C/s) <sup>‡</sup>
Polymerase activation (Activation de la polymérase)	1	95 °C	2 min	4,4
Touch down cycling (Cyclage Touchdown) <sup>§</sup> : Step down (Cyclage par essais : Incrément) -0,5° C/cycle	10	95 °C	5 s	4,4
		61°C – 56,5°C <sup>§</sup>	30 s	2,2
Quantification cycling (Cyclage par quantification) <sup>†</sup> : Acquisition/Detection (Acquisition/Détection)	40	95°C	5 s	4,4
		52°C <sup>†</sup>	40 s	2,2
Cooling (Refroidissement)	1	40°C	30 s	2,2

<sup>‡</sup> Vitesse de rampe par défaut (plaque 96 puits)

<sup>§</sup> **Step size (incrément)** : -0.5° C/Cycle, **Sec Target (Cible s)** : 56° C

<sup>†</sup> **Analysis mode (Mode d'analyse)** : Quantification, **Acquisition mode** (Mode d'acquisition) : Single (Simple)

Figure 6. Programme de thermocyclage – Activation de la polymérase

The screenshot shows the 'Programs' table with the following data:

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

The 'Polymerase activation Temperature Targets' table is also visible:

Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:02:00	4.4	0	0	0	0

Figure 7. Programme de thermocyclage – Cyclage par essais

The screenshot shows the 'Programs' table with the following data:

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

The 'Touchdown cycling Temperature Targets' table is also visible:

Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:05	4.4	0	0	0	0
61	None	00:00:30	2.2	56	0.5	0	0

Figure 8. Programme de thermocyclage – Cyclage par quantification

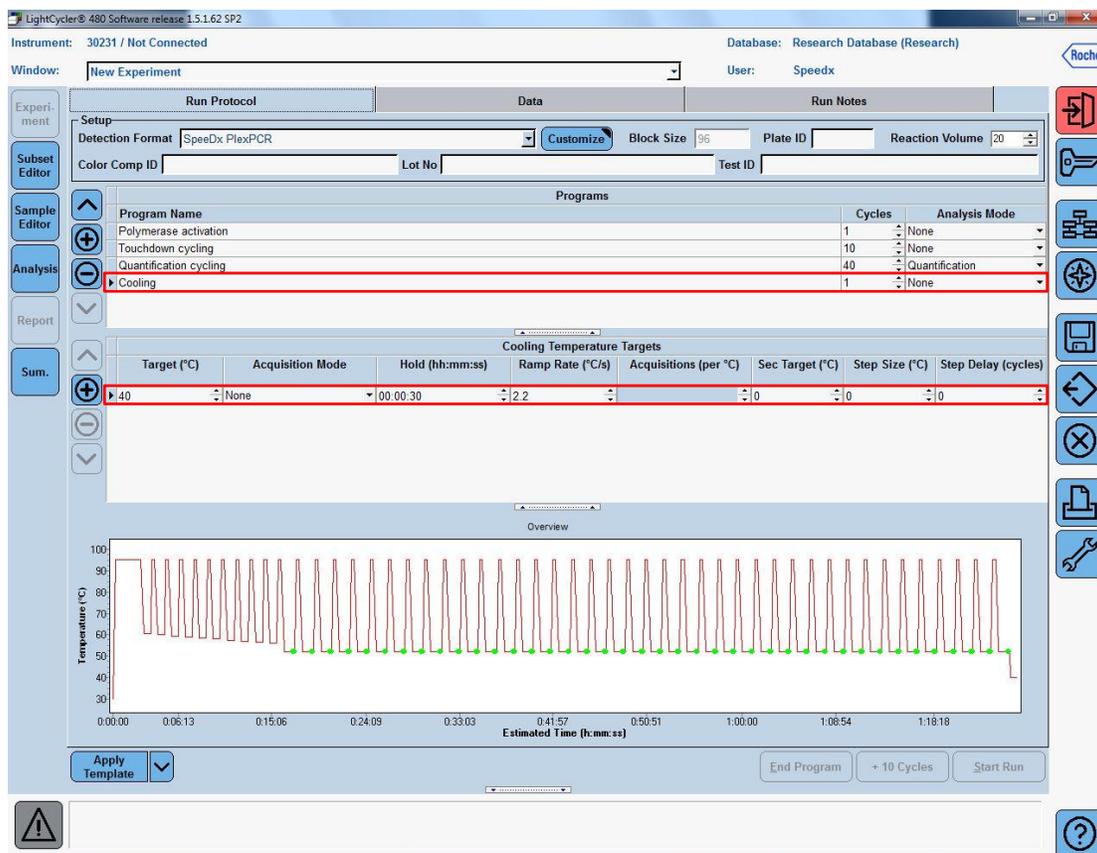
The screenshot shows the 'Programs' table with the following data:

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

The 'Quantification cycling Temperature Targets' table is also visible:

Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:05	4.4	0	0	0	0
52	Single	00:00:40	2.2	0	0	0	0

Figure 9. Programme de thermocyclage – Refroidissement



> **Start Run** (Lancer la série)

Une fois le programme de cyclage terminé, exporter un fichier .IXO dans le logiciel d'analyse **ResistancePlus®** MG (LC480) pour analyse.

Sélectionner **Export** (Exporter)

Enregistrer dans un emplacement facilement identifiable.

## 19.2 Colour Compensation (Compensation de couleur) pour LightCycler® 480 Instrument II

**REMARQUE** : le kit **PlexPCR®** Colour Compensation (Compensation de couleur) (réf. 90001) doit être traité et appliqué pour l'analyse de LC480 II. Ce kit peut être fourni sur demande.

Pour une analyse avec le logiciel, le nom de l'échantillon des réactions de compensation de couleur doit être marqué comme indiqué dans le **Tableau 47**.

Une fois le programme de cyclage terminé, exporter un fichier .IXO dans le logiciel d'analyse **ResistancePlus®** MG (LC480) pour analyse.

Sélectionner **Export** (Exporter)

Enregistrer dans un emplacement facilement identifiable sous le nom « **SpeedX PlexPCR** »

**Tableau 47. Nom de l'échantillon pour les réactions de compensation de couleur pour le logiciel d'analyse**

Réactions							
	BLANC	488 mix (Mélange 488)	Mélange 510	580 mix (Mélange 580)	610 mix (Mélange 610)	640 mix (Mélange 640)	660 mix (Mélange 660)
<b>Canal dominant</b>	Eau	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660
<b>Nom de l'échantillon</b>	BLANC	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660

### 19.3 Interprétation des résultats

L'interprétation des données nécessite le logiciel d'analyse **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG (LC480). Le logiciel d'analyse peut être fourni sur demande. Contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour de plus amples informations.

Consulter la **Section 24** pour obtenir les instructions d'utilisation du logiciel d'analyse **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG (LC480).

## 20 Annexe 2 : analyseur cobas z 480

Les informations suivantes sont basées sur le logiciel de l'analyseur cobas z 480 (LightCycler 480 SW UDF 2.1.0). Adressez-vous à votre représentant Roche pour accéder au logiciel UDF sur votre analyseur cobas z 480.

Le kit **ResistancePlus**® MG contient les colorants pour l'analyseur cobas z 480. Le kit **PlexPCR**® Colour Compensation (réf 90001) doit être traité et appliqué pour l'analyse z 480 (voir la **Section 20.2**). Ce kit peut être fourni sur demande.

### 20.1 Programmation de l'analyseur cobas z 480

#### Format de détection

Créer un Format de **détection personnalisé**

**Ouvrir Tools (Outils) > Detection Formats (Formats de détection)**

Créer un New Detection Format (nouveau format de détection) et le nommer « **SpeedX PlexPCR** » [peut être accompli durant la création du fichier SpeedX Colour Compensation (Compensation de couleur)] (voir la **Figure 10**).

Pour **Filter Combination Selection** (Sélection de combinaisons de filtres), sélectionner les plages suivantes (excitation-émission) :

**Tableau 48. Combinaisons de filtres** ^

z 480	465-510	540-580	540-610	540-645	610-670
-------	---------	---------	---------	---------	---------

^ Ces combinaisons de filtres sont les noms par défaut des canaux

Régler **Selected Filter Combination List** (Liste des combinaisons de filtres sélectionnées) pour tous les canaux comme suit :

Melt Factor (Facteur de fusion) : 1

Quant Factor (Facteur de quantification) : 10

Max Integration Time (sec) (Temps d'intégration max (s)) : 1

**Figure 10. Format de détection SpeedX personnalisé**

**Filter Combination Selection**

**Emission**

E	510	580	610	645	670	700
x	465	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
c	498	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
i	540	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
t	610	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
a	680	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
i						
o						
n						

Clear

**Selected Filter Combination List**

Excitation Filter	Emission Filter	Name	Melt Factor	Quant Factor	Max Integration Time (Sec)
465	510	465-510	1	10	1
540	580	540-580	1	10	1
540	610	540-610	1	10	1
540	645	540-645	1	10	1
610	670	610-670	1	10	1

## Paramètres de l'instrument

Créer un Format de **détection personnalisé**

Ouvrir **Tools (Ouvrir Outils) > Instruments**

Sous **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument) > sélectionner **Barcode Enabled**(Code-barre activé)

## Configuration expérimentale

Sélectionner **New Experiment** (Nouvelle expérience)

Dans l'onglet **Run Protocol** (Protocole de la série)

Sous **Detection Format** (Format de détection), sélectionner le « **SpeedX PlexPCR** » personnalisé (**Figure 11**)

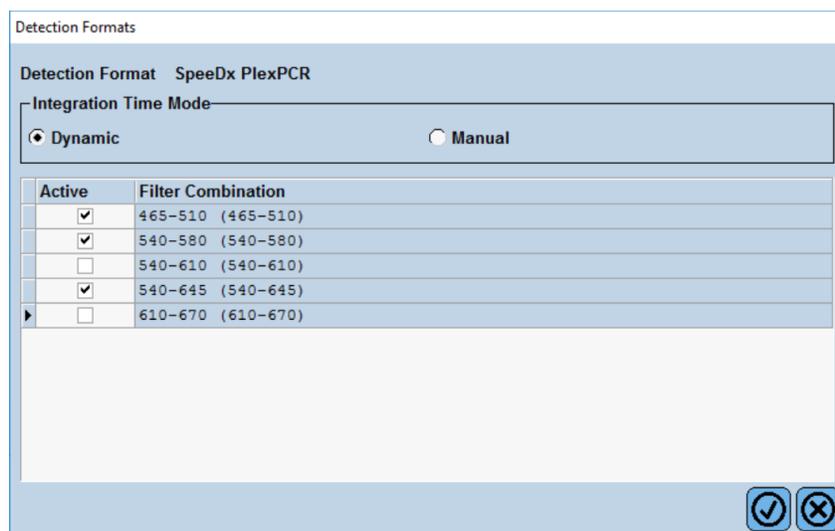
Sélectionner **Customize** (Personnaliser) >

Sélectionner **Integration Time Mode > Dynamic** (Mode Temps d'intégration > Dynamique)

Sélectionner les **Filter Combinations** (Combinaisons de filtres) actives, indiquées dans le **Tableau 49**

Tableau 49. Canaux pour les cibles <i>ResistancePlus</i> <sup>®</sup> MG		
Détection de <i>M. genitalium</i> (MgPa)	Mutation de l'ARNr 23S	Contrôle interne
465-510	540-580	540-645

Figure 11. Format de détection personnalisé



Pour permettre la détection automatisée de l'échantillon dans le logiciel d'analyse, assigner des étiquettes d'identification aux puits sur la plaque

Ouvrir le module **Sample Editor** (Éditeur d'échantillon)

Sélectionner le puits

Modifier le **Sample Name** (Nom de l'échantillon) pour qu'il corresponde à l'étiquette d'identification définie dans le module de tests du logiciel d'analyse (voir la **Section 24.4**)

Les échantillons sont étiquetés sous la forme *Prefixe\_Suffixe* (comme présenté dans le **Tableau 50** et la **Figure 12**) p. ex. Pa\_MG

**REMARQUE** : les étiquettes d'identification des échantillons sont sensibles à la casse. L'étiquette d'identification doit correspondre exactement à celle assignée dans le fichier de série.

Tableau 50. Étiquettes d'identification d'échantillon pour le logiciel d'analyse			
Type d'échantillon	Préfixe (dans le logiciel d'analyse)	_Suffixe (dans le logiciel d'analyse)	Dénomination de l'échantillon (dans z 480)
Échantillon classique	S	_MG	S_MG
Contrôle négatif	N	_MG	N_MG
Contrôle positif (MG, ARNr 23S de type mutant) (Pa)	Pa	_MG	Pa_MG
Contrôle positif (MG, ARNr 23S de type sauvage) (Pb)	Pb	_MG	Pb_MG

Figure 12. Éditeur d'échantillon – Assignment d'étiquettes d'identification aux puits

Pos	Filter combination	Color	Repl Of	Sample Name	Quantification Sample Type
A12	465–510 (465)	■		S_MG	Unknown
A12	540–580 (540)	■		S_MG	Unknown
A12	540–645 (540)	■		S_MG	Unknown
B12	465–510 (465)	■		Pa_MG	Unknown
B12	540–580 (540)	■		Pa_MG	Unknown
B12	540–645 (540)	■		Pa_MG	Unknown
C12	465–510 (465)	■		Pb_MG	Unknown
C12	540–580 (540)	■		Pb_MG	Unknown
C12	540–645 (540)	■		Pb_MG	Unknown
D12	465–510 (465)	■		N_MG	Unknown
D12	540–580 (540)	■		N_MG	Unknown
D12	540–645 (540)	■		N_MG	Unknown

Régler **Reaction Volume** (Volume réactionnel) > 20 µL

Créer le programme suivant (présenté de manière plus détaillée de la **Figure 13** à la **Figure 16**) :

Tableau 51. Thermocycling Program (Programme de thermocyclage)				
Program name (Nom du programme)	Cycles	Target °C (Cible °C)	Hold (Temps d'arrêt)	Ramp Rate (Vitesse de rampe) (°C/s) <sup>‡</sup>
Polymerase activation (Activation de la polymérase)	1	95° C	2 min	4,4
Touch down cycling (Cyclage Touchdown) <sup>§</sup> :	10	95 °C	5 s	4,4
Step down (Cyclage par essais : Incrément) -0,5° C/cycle		61°C – 56,5°C <sup>§</sup>	30 s	2,2
Quantification cycling (Cyclage par quantification) <sup>†</sup> : Acquisition/Detection (Acquisition/Détection)	40	95 °C	5 s	4,4
		52°C <sup>†</sup>	40 s	2,2
Cooling (Refroidissement)	1	40°C	30 s	2,2

<sup>‡</sup> Vitesse de rampe par défaut (plaque 96 puits)

<sup>§</sup> **Step size (incrément)** : -0,5°C/Cycle, **Sec Target (cycle s)**: 56°C

<sup>†</sup> **Analysis mode (Mode d'analyse)** : Quantification, **Acquisition mode (Mode d'acquisition)** : Single (Simple)

Figure 13. Programme de thermocyclage – Activation de la polymérase

The screenshot shows the 'Programs' table with the following data:

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

The 'Polymerase activation Temperature Targets' table is also visible:

Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:02:00	4.4	0	0	0	0

Figure 14. Programme de thermocyclage – Cyclage par essais

The screenshot shows the 'Programs' table with the following data:

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

The 'Touchdown cycling Temperature Targets' table is also visible:

Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:05	4.4	0	0	0	0
61	None	00:00:30	2.2	56	0.5	0	0

Figure 15. Programme de thermocyclage – Cyclage par quantification

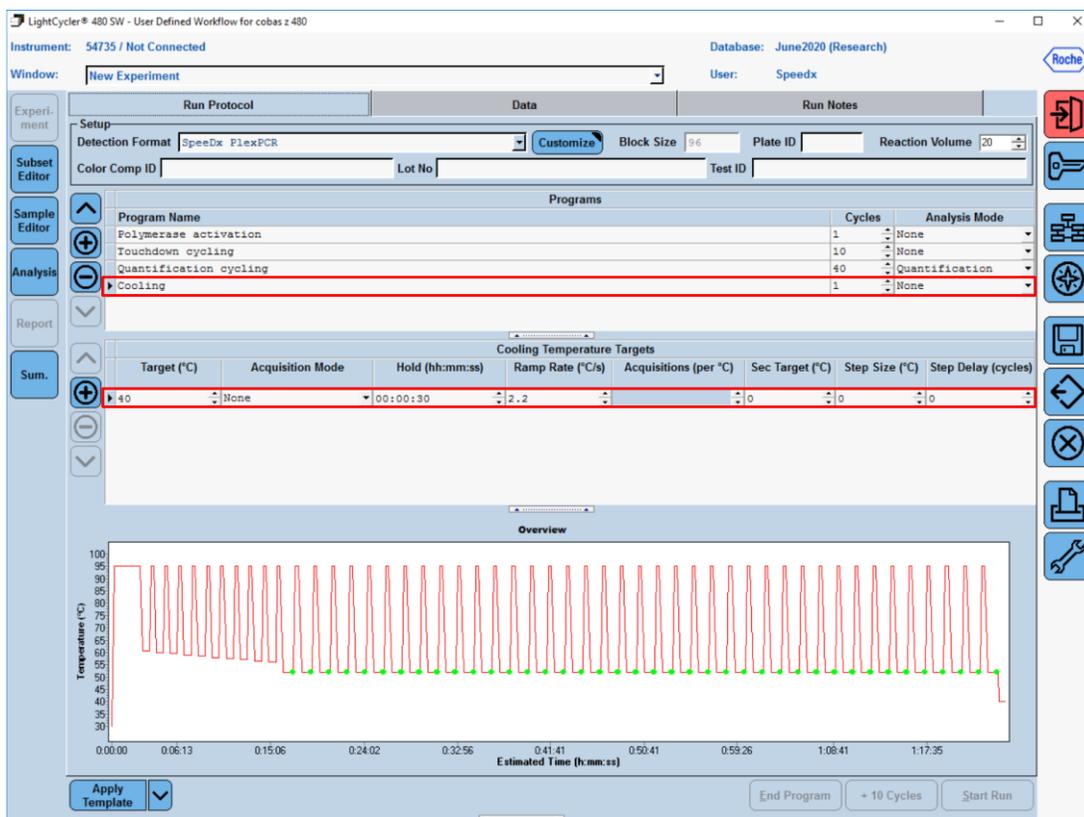
The screenshot shows the 'Programs' table with the following data:

Program Name	Cycles	Analysis Mode
Polymerase activation	1	None
Touchdown cycling	10	None
Quantification cycling	40	Quantification
Cooling	1	None

The 'Quantification cycling Temperature Targets' table is also visible:

Target (°C)	Acquisition Mode	Hold (hh:mm:ss)	Ramp Rate (°C/s)	Acquisitions (per °C)	Sec Target (°C)	Step Size (°C)	Step Delay (cycles)
95	None	00:00:05	4.4	0	0	0	0
52	Single	00:00:40	2.2	0	0	0	0

Figure 16. Programme de thermocyclage – Refroidissement



> **Start Run** (Lancer la série)

Une fois le programme de cyclage terminé, exporter un fichier .IXO dans le logiciel d'analyse **ResistancePlus®** MG (z480) .

Sélectionner **Export** (Exporter)

Enregistrer dans un emplacement facilement identifiable.

## 20.2 Colour Compensation (compensation de couleur) pour l'analyseur cobas z 480

**REMARQUE** : le kit **PlexPCR®** Colour Compensation (Compensation de couleur) (réf. 90001) doit être traité et appliqué pour l'analyse z480. Ce kit peut être fourni sur demande.

Pour une analyse avec le logiciel, le nom de l'échantillon des réactions de compensation de couleur doit être marqué comme indiqué dans le **Tableau 52**.

Une fois le programme de cyclage terminé, exporter un fichier .IXO dans le logiciel d'analyse **ResistancePlus®** MG (z480) .

Sélectionner **Export** (Exporter)

Enregistrer dans un emplacement facilement identifiable sous le nom « **SpeedX PlexPCR** »

**Tableau 52. Nom de l'échantillon pour les réactions de compensation de couleur pour le logiciel d'analyse**

Réactions						
	BLANC	Mélange 510	580 mix (Mélange 580)	610 mix (Mélange 610)	640 mix (Mélange 640)	660 mix (Mélange 660)
<b>Canal dominant</b>	Eau	465-510	540-580	540-610	540-645	610-670
<b>Nom de l'échantillon</b>	BLANC	465-510	540-580	540-610	540-645	610-670

### 20.3 Interprétation des résultats

L'interprétation des données nécessite le logiciel d'analyse **ResistancePlus®** MG (z480). Le logiciel d'analyse peut être fourni sur demande. Contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour de plus amples informations.

Consulter la **Section 24** pour obtenir les instructions d'utilisation du logiciel d'analyse **ResistancePlus®** MG (z480) .

## 21 Annexe 3 : Applied Biosystems® 7500 Fast

Les informations suivantes sont basées sur le 7500 Software v2.3.

Le kit **ResistancePlus®** MG<sub>(550)</sub> contient les colorants pour le système Applied Biosystems® (ABI) 7500 Fast. Les étalonnages de coloration par défaut sont utilisés pour tous les canaux. Aucun étalonnage personnalisé n'est requis.

### 21.1 Programmation du système Applied Biosystems® 7500 Fast

Sélectionner **Advanced Setup** (Configuration avancée)

Dans **Setup** (Configuration) > ouvrir **Experiment Properties** (Propriétés de l'expérience) et sélectionner les options suivantes

Nommer l'expérience

**Instrument** > 7500 Fast (96 puits)

**Type of experiment** (Type d'expérience) > Quantitation – Standard Curve (Analyse quantitative - Courbe standard)

**Reagents** (Réactifs) > Other (Autre)

**Ramp Speed (Vitesse de rampe)** > Standard

Dans **Setup** (Configuration) > ouvrir **Plate Setup** (Configuration plaque)

Dans l'onglet **Define Targets and Samples** (Définir cibles et échantillons) >

**Define Targets** (Définir cibles) tel qu'indiqué ci-dessous (définir les couleurs au besoin)

Tableau 53. Define Targets (Définir cibles)		
Target Name (Nom de la cible)	Reporter (Rapporteur)	Désactiveur
MgPa	FAM	None (Aucun)
Mutation de l'ARNr 23S	JOE	None (Aucun)
CI	TAMRA	None (Aucun)

Pour permettre la détection automatisée de l'échantillon dans le logiciel d'analyse, assigner des étiquettes d'identification aux puits sur la plaque

Dans **Setup** (Configuration) > ouvrir **Plate Setup** (Configuration plaque)

Dans l'onglet **Define Targets and Samples** (Définir cibles et échantillons) >

#### Define Samples (Définir échantillons)

Modifier le **Sample Name** (Nom de l'échantillon) pour qu'il corresponde à l'étiquette d'identification définie dans le module de tests du logiciel d'analyse (voir la **Section 24.4**)

Les échantillons sont étiquetés sous la forme *Préfixe\_Suffixe* (comme présenté dans le **Tableau 54** et la **Figure 17**) p. ex. Pa\_MG

**REMARQUE** : les étiquettes d'identification des échantillons sont sensibles à la casse. L'étiquette d'identification doit correspondre exactement à celle assignée dans le fichier de série.

Tableau 54. Étiquettes d'identification d'échantillon pour le logiciel d'analyse			
Type d'échantillon	Préfixe (dans le logiciel d'analyse)	_Suffixe (dans le logiciel d'analyse)	Dénomination de l'échantillon (dans 7500 Fast)
Échantillon classique	S	_MG	S_MG
Contrôle négatif	N	_MG	N_MG
Contrôle positif (MG, ARNr 23S de type mutant) (Pa)	Pa	_MG	Pa_MG
Contrôle positif (MG, ARNr 23S de type sauvage) (Pb)	Pb	_MG	Pb_MG

Figure 17. Éditeur d'échantillon – Assignment d'étiquettes d'identification aux puits



Dans l'onglet **Assign Targets and Samples** (Assigner cibles et échantillons) >

Sélectionner les puits et assigner les cibles et les échantillons aux puits sélectionnés

Sélectionner **Passive reference** (Référence passive) > None (Aucune)

Dans **Setup** (Configuration) > ouvrir **Run Method** (Méthode de traitement)

Définir **Reaction Volume Per Well** (Volume de réaction par puits) > 20 µL

Créer le programme suivant (présenté de manière plus détaillée dans Graphical View (Vue graphique) (Figure 18 et la Figure 19) et Tabular View (Vue tabulaire) (Figure 20) :

Tableau 55. Thermocycling Program (Programme de thermocyclage)				
Program name (Nom du programme)	Cycles	Target °C (Cible °C)	Hold (Temps d'arrêt)	Ramp* (Rampe)
Polymerase activation (Activation de la polymérase)	1	95 °C	2 min	100 %
Touch down cycling (Cyclage Touchdown) :	10	95 °C	5 s	100 %
Step down (Cyclage par essais : Incrément) -0,5° C/cycle <sup>◊</sup>		61°C – 56,5°C <sup>◊</sup>	30 s	100 %
Quantification cycling (Cyclage par quantification)* :	40	95°C	5 s	100 %
Acquisition/Détection		52°C <sup>+</sup>	40 s	100 %

\* Vitesse de rampe par défaut

◊ Enable AutoDelta (Activer AutoDelta) : -0,5°C/cycle

+Collect data on hold (Rassembler données en temps d'arrêt)

Figure 18. Méthode de traitement – Graphical View (Vue graphique)



Figure 19. Méthode de traitement – Graphical View (Vue graphique) – Enable AutoDelta (Activer AutoDelta)

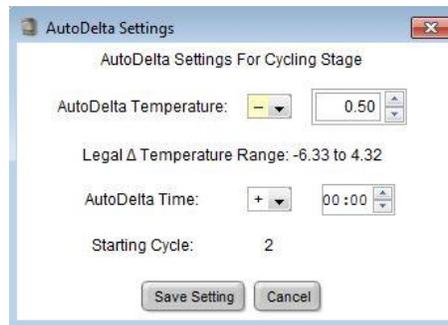


Figure 20. Méthode de traitement – Tabular View (Vue tabulaire)

	Holding Stage	Cycling Stage		Cycling Stage	
		Number of Cycles: 10 <input checked="" type="checkbox"/> Enable AutoDelta Starting Cycle: 2		Number of Cycles: 40 <input type="checkbox"/> Enable AutoDelta Starting Cycle: 2	
Ramp Rate (%)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
Temperature (°C)	95.0	95.0	61.0	95.0	52.0
Time	02:00	00:05	00:30	00:05	00:40
AutoDelta Temp:		+ 0.00	- 0.50		
AutoDelta Time:		+ 00:00	+ 00:00		
Collect Data on Ramp:	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
Collect Data on Hold:	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>
	Step 1	Step 1	Step 2	Step 1	Step 2

Dans **Setup** (Configuration) > ouvrir **Run Method** (Méthode de traitement)

Sélectionner **Start Run** (Lancer la série)

## 21.2 Interprétation des résultats

L'interprétation des données nécessite le logiciel d'analyse **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG (7500) analysis software. Le logiciel d'analyse peut être fourni sur demande. Contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour de plus amples informations.

Consulter la **Section 24** pour obtenir les instructions d'utilisation du logiciel d'analyse **ResistancePlus**<sup>®</sup> MG (7500).

## 22 Annexe 4 : Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

Les informations suivantes sont basées sur le logiciel SDS v. 1.4.1 pour le 7500 Fast Dx.

Le kit **ResistancePlus**® MG<sub>(550)</sub> contient les colorants pour le système Applied Biosystems® (ABI) 7500 Fast Dx. Les étalonnages de coloration par défaut sont utilisés pour tous les canaux. Aucun étalonnage personnalisé n'est requis.

### 22.1 Programmation du système Applied Biosystems® 7500 Fast Dx

Sélectionner Create New Document (Créer nouveau document)

Dans **New Document Wizard** (Assistant nouveau document) sélectionner les options suivantes pour renseigner les champs (**Figure 21**) :

**Assay** (Test) > Standard Curve (Absolute Quantification) (Courbe standard (Quantification absolue))

**Container** (Contenant) > 96-Well Clear (96 puits vides transparent)

**Template** (Modèle) > Blank document (document vide)

**Run mode** (Mode série) > Standard 7500

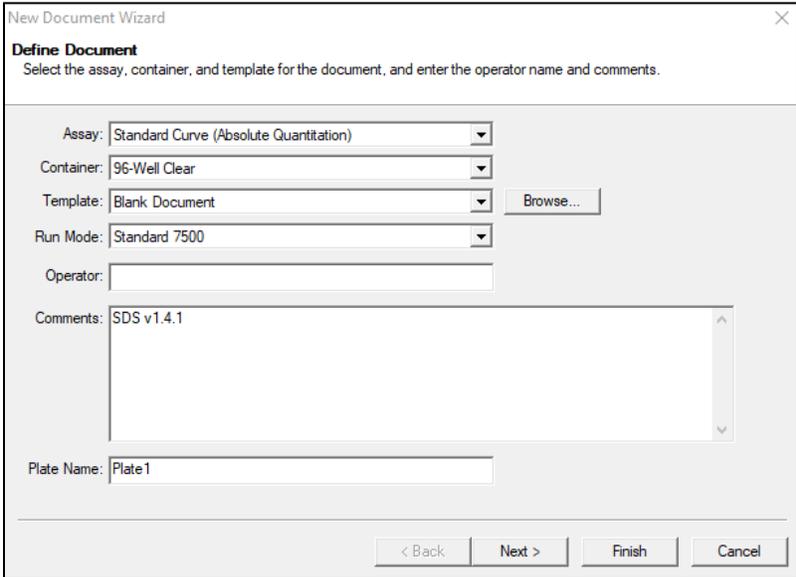
**Operator** (Opérateur) > Saisir le nom de l'opérateur

**Comments** (Commentaires) > Saisir tous les commentaires ou les notes supplémentaires pour le fichier de série

**Plate Name** (Nom de la plaque) > Donner un nom unique au fichier de série

Sélectionner **Next** (Suivant)

**Figure 21. Fenêtre New Document Wizard (Assistant nouveau document)**



Dans **Select Detectors** (Sélectionner détecteurs) > sélectionner **New Detector** (Nouveau détecteur)

Définir les détecteurs comme indiqué ci-dessous (définir les couleurs au besoin) (indiqué dans le **Tableau 56** et la **Figure 22**)

Tableau 56. Définir détecteurs			
Détecteurs	Nom du détecteur	Colorant rapporteur	Désactiver
Détecteur 1	MgPa	FAM	None (Aucun)
Détecteur 2	Mutation de l'ARNr 23S	JOE	None (Aucun)
Détecteur 3	CI	TAMRA	None (Aucun)

Sélectionner **OK**

Figure 22. Fenêtre New Detector (nouveau détecteur)

**Sélectionner les détecteurs (Figure 23)**

Sélectionner les détecteurs et **Add** (Ajouter) au document

Sélectionner **Passive reference** (Référence passive) > **None** (Aucune)

Figure 23. Fenêtre Select Detectors (Sélectionner détecteurs)

Dans **Set up** sample plate (configuration de la plaque d'échantillons) >

Sélectionner les puits et assigner 4 détecteurs aux puits sélectionnés

- MgPa
- Mutation de l'ARNr 23S
- CI

Sélectionner **Next** (Suivant)

Pour permettre la détection automatisée de l'échantillon dans le logiciel d'analyse, assigner des étiquettes d'identification aux puits sur la plaque

Dans l'onglet **Setup** > **Plate** (Configuration > Plaque)

Faire un clic droit sur le puits et sélectionner **Well Inspector** (Inspecteur de puits) > Renseigner **Sample Name** (Nom de l'échantillon)

Modifier le **Sample Name** (Nom de l'échantillon) pour qu'il corresponde à l'étiquette d'identification définie dans le module de tests du logiciel d'analyse (voir la **Section 24.4**)

Les échantillons sont étiquetés sous la forme *Préfixe\_Suffixe* (comme présenté dans le **Tableau 57** et la **Figure 24**) p. ex. Pb\_MG

**REMARQUE** : les étiquettes d'identification des échantillons sont sensibles à la casse. L'étiquette d'identification doit correspondre exactement à celle assignée dans le fichier de série.

Tableau 57. Étiquettes d'identification d'échantillon pour le logiciel d'analyse			
Type d'échantillon	Préfixe_ (dans le logiciel d'analyse)	_Suffixe (dans le logiciel d'analyse)	Dénomination de l'échantillon (dans 7500 Fast Dx)
Échantillon classique	S	_MG	S_MG
Contrôle négatif	N	_MG	N_MG
Contrôle positif (MG, ARNr 23S de type mutant) (Pa)	Pa	_MG	Pa_MG
Contrôle positif (MG, ARNr 23S de type sauvage) (Pb)	Pb	_MG	Pb_MG

**Figure 24. Vue Setup plate (Configuration de la plaque) – Assignment des étiquettes d'identification aux puits**

Setup	Instrument	Results	Audit Trail	E-Signatures
Plate	1	2	3	
A				
B		Pb_MG U U U		
C		Pa_MG U U U		
D		Pa_MG U U U		
E		S_MG U U U		
F		N_MG U U U		

Sélectionner **Next** (Suivant)

Dans l'onglet **Instrument**

Dans la zone **Settings** (Paramètres)

Pour **Sample Volume (µL)** (Volume d'échantillon (µL)) : saisir 20 µL

Créer le protocole suivant de cycleur thermique (**Tableau 58 Figure 25 et Figure 26**)

Tableau 58. Protocole de cycleur thermique				
Program name (Nom du programme)	Cycles	Target °C (Cible °C)	Hold (Temps d'arrêt)	Ramp (Rampe) <sup>‡</sup>
Polymerase activation (Activation de la polymérase)	1	95°C	2 min	100 %
Touch down cycling (Cyclage Touchdown) : Step down (Cyclage par essais : Incrément) -0,5°C/cycle <sup>§</sup>	10	95°C	5 s	100 %
		61°C – 56,5°C <sup>§</sup>	30 s	100 %
Quantification cycling (Cyclage par quantification) <sup>+</sup> : Acquisition/Detection (Acquisition/Détection)	40	95°C	5 s	100 %
		52°C <sup>+</sup>	40 s	100 %

<sup>‡</sup> Vitesse de rampe par défaut

<sup>§</sup> Enable AutoDelta (Activer AutoDelta) : -0,5° C/cycle

<sup>+</sup> Collect data on hold (Rassembler données en temps d'arrêt)

Figure 25. Protocole de cycleur thermique - Profil thermique

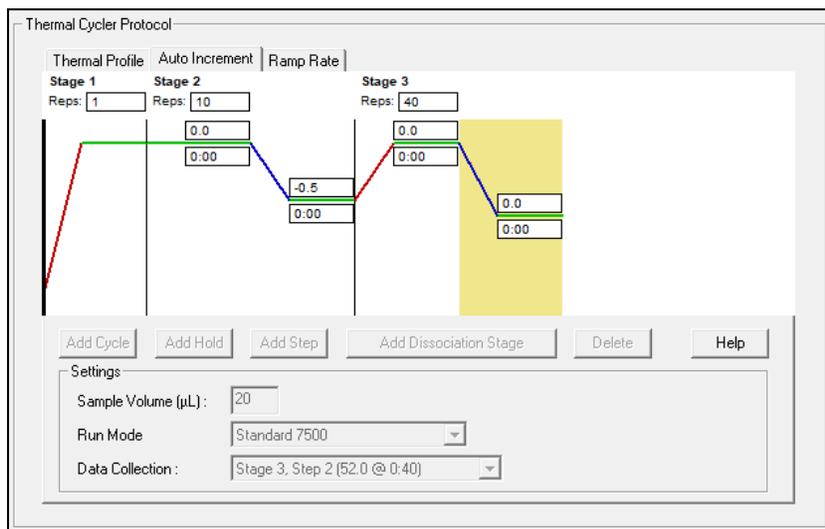
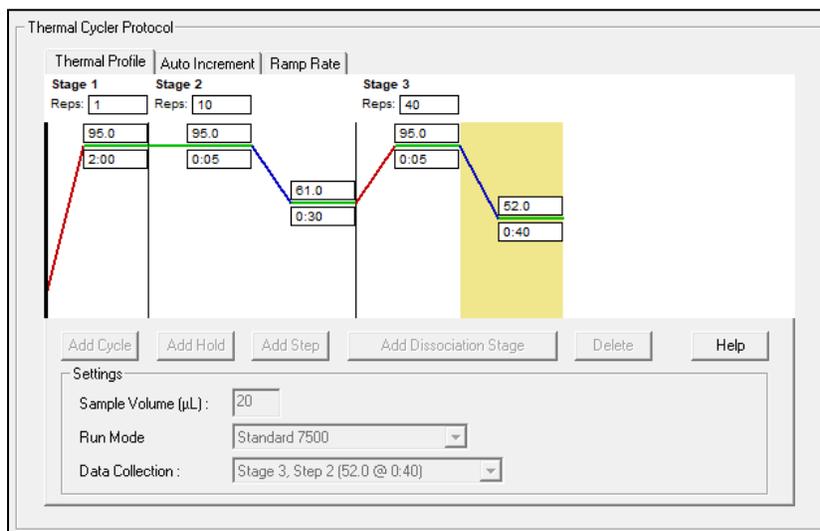


Figure 26. Protocole de cycleur thermique - Incrément automatique

## 22.2 Interprétation des résultats

L'interprétation des données nécessite le logiciel d'analyse **ResistancePlus**® MG (7500) analysis software. Le logiciel d'analyse peut être fourni sur demande. Contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour de plus amples informations.

Consulter la **Section 24** pour obtenir les instructions d'utilisation du logiciel d'analyse **ResistancePlus**® MG (7500).

## 23 Annexe 5 : Systèmes de PCR en temps réel Bio-Rad CFX96™ Dx et CFX96 Touch™

Les informations suivantes sont basées sur le système Bio-Rad CFX Manager v. 3.1

Le kit **ResistancePlus**® MG<sub>(675)</sub> contient les colorants pour le système CFX96 Real-Time PCR System. Les étalonnages de coloration par défaut sont utilisés pour tous les canaux. Aucun étalonnage personnalisé n'est requis.

### 23.1 Programmation des systèmes de PCR en temps réel CFX96™ Dx et CFX96 Touch™

Sélectionner **View** (Afficher) > ouvrir **Run Setup** (Configuration série)

Dans **Run Setup** (Configuration série) > onglet **Protocol** (Protocole) > sélectionner **Create New** (Créer)

Dans **Protocol Editor** (Éditeur de protocole) (voir la **Figure 27**)

Régler **Sample Volume** (Volume d'échantillon) > 20 µL

Créer le programme de thermocyclage suivant et l'enregistrer sous « **SpeedX PCR** ». Ce protocole peut être sélectionné pour de futures séries.

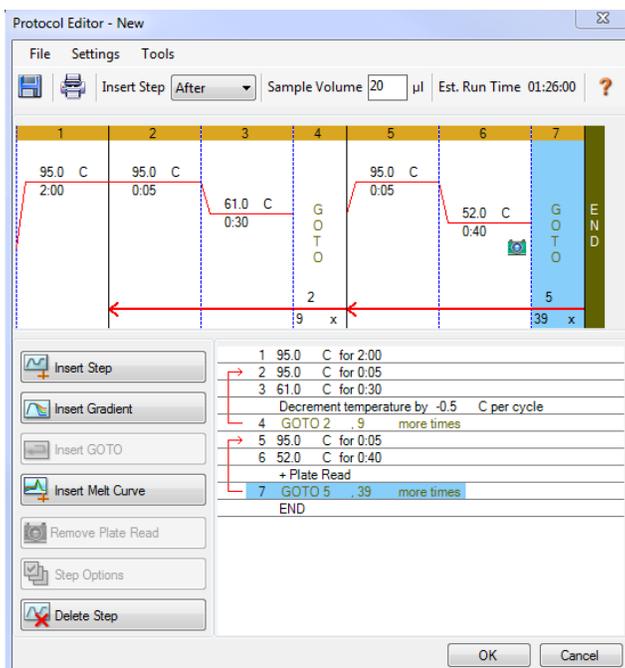
Pour le Touch down cycling (Cyclage Touchdown), sélectionner l'étape 3 puis **Step options**(Options d'étape) > Increment (Incrément) : -0,5 °C/cycle (présenté plus en détail dans la **Figure 28**).

Program name (Nom du programme)	Cycles	Target °C (Cible °C)	Hold (Temps d'arrêt)
Polymerase activation (Activation de la polymérase)	1	95 °C	2 min
Touch down cycling (Cyclage Touchdown) <sup>δ</sup> :	10	95°C	5 s
Step down (Cyclage par essais : Incrément) -0,5 °C/cycle		61°C – 56,5°C <sup>δ</sup>	30 s
Quantification cycling (Cyclage par quantification) <sup>+</sup> : Acquisition/Détection	40	95°C	5 s
		52°C <sup>+</sup>	40 s

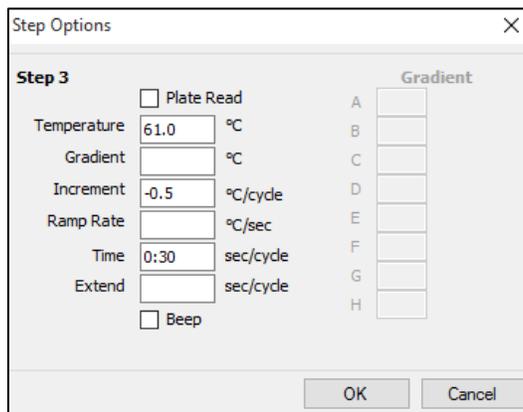
<sup>δ</sup> **Step options** (Options d'étape) > Increment (Incrément) : -0,5° C/cycle

<sup>+</sup> **Add Plate Read to Step** (Ajouter lecture de plaque à l'étape)

**Figure 27. Thermocycling Protocol (Prototype de thermocyclage) – Graphical view (Vue graphique)**



**Figure 28. Step Options (Options d'étape)**



Dans l'onglet **Run Setup > Plate** (Configuration série > Plaque)

Sélectionner **Create New** (Créer)

Sélectionner **Settings** (Paramètres) > **Plate Type** (Type de plaque) > sélectionner **BR Clear** (BR transparente)

Régler **Scan mode** (Mode balayage) > All channels (Tous les canaux)

**Select Fluorophores** (Sélectionner Fluorophores) > FAM, HEX, Quasar 705 (voir **Tableau 60**)

Sélectionner les puits contenant des échantillons et assigner le **Sample Type** (Type d'échantillon) puis cocher **Load** (Charger) pour les fluorophores (FAM, HEX, Quasar 705)

Enregistrer la plaque

**Tableau 60. Canaux pour les cibles *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG<sub>(675)</sub>**

Détection de <i>M. genitalium</i> (MgPa)	Mutation de l'ARNr 23S	Internal Control (Contrôle interne)
FAM	HEX	Quasar 705

Dans **Run Setup** (Configuration série) > onglet **Start Run** (Lancer la série)

Sélectionner le bloc

**Start Run (Lancer la série)**

Pour permettre la détection automatisée de l'échantillon dans le logiciel d'analyse, assigner des étiquettes d'identification aux puits sur la plaque

Ouvrir le module **Plate Setup** (Configuration plaque)

Sélectionner le puits

Modifier le **Sample Name** (Nom de l'échantillon) pour qu'il corresponde à l'étiquette d'identification définie dans le module de tests du logiciel d'analyse (voir la **Section 24.4**)

Les échantillons sont étiquetés sous la forme *Préfixe\_Suffixe* (comme présenté dans le **Tableau 61** et la **Figure 29**) p. ex. Pb\_MG

**REMARQUE** : les étiquettes d'identification des échantillons sont sensibles à la casse. L'étiquette d'identification doit correspondre exactement à celle assignée dans le fichier de série.

**Tableau 61. Étiquettes d'identification d'échantillon pour le logiciel d'analyse**

Type d'échantillon	Préfixe_ (dans le logiciel d'analyse)	Suffixe (dans le logiciel d'analyse)	Dénomination de l'échantillon (dans CFX96)
Échantillon classique	S	_MG	S_MG
Contrôle négatif	N	_MG	N_MG
Contrôle positif (MG, ARNr 23S de type mutant) (Pa)	Pa	_MG	Pa_MG
Contrôle positif (MG, ARNr 23S de type sauvage) (Pb)	Pb	_MG	Pb_MG

**Figure 29. Sample Editor (Éditeur d'échantillons) – Assignment d'étiquettes d'identification aux puits**

	1	2	3
A	Unk FAM HEX Quasar 705 S_MG		
B	Unk FAM HEX Quasar 705 Pa_MG		
C	Unk FAM HEX Quasar 705 Pb_MG		
D	Unk FAM HEX Quasar 705 N_MG		

### 23.2 Interprétation des résultats

L'interprétation des données nécessite le logiciel d'analyse *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG (CFX). Le logiciel d'analyse peut être fourni sur demande. Contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour de plus amples informations.

Consulter la **Section 24** pour obtenir les instructions d'utilisation du logiciel d'analyse *ResistancePlus*<sup>®</sup> MG (CFX) .

## 24 Annexe A : interprétation des résultats

L'interprétation des données nécessite le logiciel d'analyse **ResistancePlus**® MG. Même si les amorces **PlexPrime**® offrent une meilleure spécificité que d'autres amorces spécifiques d'allèle, certaines amplifications non spécifiques du test de mutant de l'ARNr 23S peuvent être identifiables dans des échantillons à concentrations élevées de l'ARNr 23S de type sauvage de *M. genitalium*. Le logiciel d'analyse **ResistancePlus**® MG automatise l'interprétation des données des résultats d'amplification et rationalise le flux de travail.

Voir le **Tableau 62** pour le logiciel d'analyse approprié pour chaque instrument de PCR en temps réel. Le logiciel d'analyse peut être fourni sur demande. Contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour de plus amples informations.

Tableau 62. Logiciel d'analyse <b>ResistancePlus</b> ® MG		
Réf.	Logiciel d'analyse*	Instrument de PCR en temps réel
99003	<b>ResistancePlus</b> ® MG (LC480)	LC480 II
99018	<b>ResistancePlus</b> ® MG (z480)	z 480
99002	<b>ResistancePlus</b> ® MG (7500)	7500 Fast et 7500 Fast Dx
99008	<b>ResistancePlus</b> ® MG (CFX)	CFX96 Dx et CFX96 Touch
99023	<b>REFLEX ResistancePlus</b> ® MG (LC480)	LC480 II
99024	<b>REFLEX ResistancePlus</b> ® MG (z480)	z 480
99026	<b>REFLEX ResistancePlus</b> ® MG (7500)	7500 Fast et 7500 Fast Dx
99025	<b>REFLEX ResistancePlus</b> ® MG (CFX)	CFX96 Dx et CFX96 Touch

\* Consulter le site Web <https://plexpcr.com/products/sexually-transmitted-infections/resistanceplus-mg/#resources> pour s'assurer d'utiliser la toute dernière version du logiciel d'analyse.

**REMARQUE** : observer les pratiques de laboratoire standard pour le transfert, le signalement et le stockage des résultats afin de prévenir la perte des informations relatives aux échantillons.

### 24.1 Plateforme FastFinder - Configuration minimale requise

Le logiciel d'analyse est disponible sur la plateforme FastFinder (<https://www.ugentec.com/fastfinder/analysis>). La configuration minimale requise pour l'installation de la plateforme FastFinder est mentionnée ci-dessous.

#### Configuration matérielle

PC (les ordinateurs Mac ne sont pas compatibles)

Processeur : 2 GHz, 2 Go de RAM

Espace disque : 10 Go

Connexion Internet par câble ou DSL, proxy non compatible

Résolution minimale de l'écran : 1366 x 768 pixels

#### Système d'exploitation client compatible

Système d'exploitation	Éditions compatibles
Windows 10	32 bits et 64 bits
Windows 8.1	32 bits, 64 bits et ARM
Windows 8	32 bits, 64 bits et ARM
Windows 7	SP1 32 bits et 64 bits
Windows Vista SP2	32 bits et 64 bits

### Navigateurs compatibles

Les utilisateurs du compte administrateur FastFinder ont besoin de l'un des navigateurs suivants :

- Internet Explorer 11 ou plus récent
- Microsoft Edge 25 ou plus récent
- Firefox 45 ou plus récent
- Google Chrome 47 ou plus récent.

Il peut fonctionner sur des versions plus anciennes, mais celles-ci ne sont pas officiellement compatibles.

### Configuration logicielle

Pour utiliser le logiciel FastFinder, il faut au moins disposer de .NET 4.6.1. Pour plus d'informations sur le cadre .NET, veuillez consulter les pages d'aide de Microsoft Windows.

### Paramètres de l'antivirus

Votre logiciel antivirus peut mettre le programme d'installation de FastFinder (UgenTec.FastFinder.Installer.exe) en quarantaine. Veuillez inclure ce fichier dans la liste blanche de l'antivirus. Exemple : Symantec (Risque : WS.Reputation.1)

### Configuration du pare-feu

Les connexions https doivent être autorisées vers \*.fastfinderplatform.com:443

Pour des instructions détaillées supplémentaires sur la plate-forme **FastFinder**, consulter **FastFinder Instructions For Use** (mode d'emploi de FastFinder) disponible dans le menu **Help** (Aide).

Pour accéder au menu Help (Aide)

- Ouvrir le menu Start (Démarrer)



- Sélectionner  ou la section **Help** (Aide) et sélectionner ensuite **Product Documentation** (Documentation du produit) puis **Instructions For Use (Mode d'emploi)**.



## 24.2 Device set up (Configuration du dispositif) (nouvel utilisateur ou nouveau dispositif)

Consulter **FastFinder Instructions For Use** (mode d'emploi de FastFinder) pour obtenir des instructions détaillées relatives à la configuration du dispositif, accessible depuis le menu **Help** (Aide)

### Ouvrir FastFinder

- Sélectionner **Devices** (Dispositifs) dans la barre des tâches
  - > Sélectionner **Add** (Ajouter)
  - > Sélectionner un fichier (fichier de série) pour le nouveau dispositif
- Pour changer le Current directory (Répertoire actuel)
  - > Sélectionner **Browse** (Naviguer) et sélectionner le dossier contenant les fichiers utiles
  - > Sélectionner **Next** (Suivant)
- Ajouter les informations sur le dispositif
  - > Sélectionner **Save** (Enregistrer)

### 24.2.1 Compensation de couleur

**REMARQUE** : consulter la **Section 19.2** et **Section 20.2** pour plus d'informations sur la Colour Compensation (Compensation de couleur)

Un fichier de compensation de couleur doit être ajouté aux dispositifs **LC480 II** et **z 480**

- Sélectionner le dispositif LC480 II ou le dispositif z 480
  - > Dans la section **Colour Compensation** (Compensation de couleur), sélectionner 
  - > Sélectionner le fichier de compensation de couleur pour le dispositif dans le répertoire
- Pour changer le Current directory (Répertoire actuel)
  - > Sélectionner **Browse** (Naviguer) et sélectionner le dossier contenant les fichiers utiles
- Sélectionner **Next** (Suivant)
- Sélectionner **ResistancePlus MG (LC480)**, **ResistancePlus MG (z480)**, **REFLEX ResistancePlus MG (LC480)**, ou **REFLEX ResistancePlus MG (z480)** dans la liste, pour établir un lien avec ce test
- Sélectionner **Save** (Enregistrer)

De nouveaux fichiers ou des fichiers complémentaires de compensation de couleur peuvent être ajoutés à un dispositif ou désactivés au besoin.

Dans la section Compensation de couleur du dispositif

- En regard du nom du fichier, sélectionner 
- Sélectionner  pour activer ou désactiver un fichier de compensation de couleur pour un test
- Sélectionner **Save** (Enregistrer)

### 24.3 Module de test (nouvel utilisateur)

Consulter **FastFinder Instructions for use** (Mode d'emploi de FastFinder) pour obtenir des instructions détaillées relatives à la configuration des tests, accessible à partir du menu **Help** (Aide)

Ouvrir **FastFinder**

- Sélectionner **Assays** (Tests) dans la barre des tâches
- Sélectionner **Add** (Ajouter)
  - > Pour le LC480 II > Sélectionner **ResistancePlus MG (LC480)** dans la liste
  - > Pour le z 480 > Sélectionner **ResistancePlus MG (z480)** dans la liste
  - > Pour le 7500 Fast et 7500 Fast Dx > Sélectionner **ResistancePlus MG (7500)** dans la liste
  - > Pour le CFX96 Dx et CFX96 Touch > Sélectionner **ResistancePlus MG (CFX)** dans la liste
  - > Pour l'analyse des échantillons extraits sans CI sur le LC480 (flux de travail reflex) > sélectionner **REFLEX ResistancePlus® MG (LC480)** dans la liste
  - > Pour l'analyse des échantillons extraits sans CI sur le z 480 (flux de travail reflex) > sélectionner **REFLEX ResistancePlus® MG (z480)** dans la liste
  - > Pour l'analyse des échantillons extraits sans CI sur le z 480 (flux de travail reflex) > sélectionner **REFLEX ResistancePlus® MG (7500)** dans la liste
  - > Pour l'analyse des échantillons extraits sans CI sur le LC480 (flux de travail reflex) > sélectionner **REFLEX ResistancePlus® MG (CFX)** dans la liste
- Sélectionner **Add** (Ajouter)

Pour activer ou désactiver les versions du module de test

- Dans General assay information (Information générale relative au test)

- > Sélectionner  Versions
- > Sélectionner  pour activer ou désactiver la version du test
- > Sélectionner **Save** (Enregistrer)

#### 24.4 Dénomination des échantillons

Des étiquettes d'identification d'échantillon peuvent être assignées à un module de test pour automatiser la détection des puits et des types d'échantillon pour l'analyse.

Sélectionner **Assays** (Tests) dans la barre des tâches

- Dans les étiquettes d'identification du type d'échantillon (préfixe), sélectionner 
  - > Sélectionner  pour ajouter une étiquette d'identification afin de définir les étiquettes d'identification de types d'échantillon (contrôle négatif, contrôle positif(s) et échantillon classique)
  - > Ajouter le mot, l'acronyme ou la lettre souhaité dans le champ de texte
  - > Sélectionner **Save** (Enregistrer)
- Dans les étiquettes d'identification de la définition du mélange (suffixe), sélectionner 
  - > Sélectionner  pour ajouter une étiquette d'identification et définir le nom du mélange
  - > Ajouter le mot, l'acronyme ou la lettre souhaité dans le champ de texte
  - > Sélectionner **Save** (Enregistrer)
- Dans le logiciel de l'appareil (avant ou après que la série soit terminée), assigner la même étiquette d'identification aux puits appropriés
  - > Pour le **LC480 II** consulter la **Section 19** ou pour obtenir des instructions sur la programmation des étiquettes d'identification d'échantillon dans le fichier de série
  - > Pour le **z 480**, consulter la **Section 20** pour obtenir des instructions sur la programmation des étiquettes d'identification d'échantillon dans le fichier de série
  - > Pour le **7500 Fast**, consulter la **Section 21** pour obtenir des instructions sur la programmation des étiquettes d'identification d'échantillon dans le fichier de série
  - > Pour le **7500 Fast Dx** consulter la **Section 22** pour obtenir des instructions sur la programmation des étiquettes d'identification d'échantillon dans le fichier de série
  - > Pour le **CFX96 Dx** et **CFX96 Touch** consulter la **Section 23** pour obtenir des instructions sur la programmation des étiquettes d'identification d'échantillon dans le fichier de série

**REMARQUE** : les étiquettes d'identification des échantillons sont sensibles à la casse. L'étiquette d'identification doit correspondre exactement à celle assignée dans le fichier de série.

#### 24.5 Ajouter des numéros de lot de mélange

Des numéros de lot de mélange peuvent être assignés au test pour permettre la traçabilité des réactifs

- Sélectionner **Assays** (Tests) dans la barre des tâches
  - > Dans **Assay Lot (Lot de test)** : sélectionner  pour ajouter un nouveau lot ou sélectionner  pour modifier un lot existant
  - > Une fois ajoutés, les numéros de lot sont disponibles dans le module d'analyse

Sélectionner  pour afficher tous les numéros de lot ou seulement les numéros de lot actifs.

#### 24.6 Analyse

Sélectionner **Analyses** (Analyses) dans la barre des tâches pour démarrer une nouvelle analyse

## 1 Select datafile

Rechercher le fichier à télécharger pour l'analyse depuis un répertoire en particulier

- Pour changer le **Current directory** (Répertoire actuel)
  - > Sélectionner **Browse** (Naviguer) et sélectionner le dossier contenant les fichiers utiles
- Sélectionner run (data) file (traiter le fichier [de données]) dans la liste
  - > Sélectionner **Next step** (Étape suivante)

## 2 Assign assay(s)

Assigner manuellement à la plaque les informations relatives au test si la dénomination des échantillons n'a pas été configurée dans le module de tests

- Pour le **LC480 II** > Sélectionner **ResistancePlus MG (LC480)**
- Pour le **z 480** > Sélectionner **ResistancePlus MG (z480)**
- Pour **7500 Fast** et **7500 Fast Dx** > sélectionner **ResistancePlus MG (7500)**
- Pour **CFX96 Dx** et **CFX96 Touch** > Sélectionner **ResistancePlus MG (CFX)**
- Pour l'analyse des échantillons extraits sans CI sur le **LC480** > sélectionner **REFLEX ResistancePlus® MG (LC480)**
- Pour l'analyse des échantillons extraits sans CI sur le **z 480** > sélectionner **REFLEX ResistancePlus® MG (z480)**
- Pour l'analyse des échantillons extraits sans CI sur le **7500 Fast** et le **7500 Fast Dx** > Sélectionner **REFLEX ResistancePlus® MG (7500)**
- Pour l'analyse des échantillons extraits sans CI sur le **CFX96 Dx** et le **CFX96 Touch** > Sélectionner **REFLEX ResistancePlus® MG (CFX)**
- Sélectionner les puits et les assigner en tant que :
  - > Échantillon classique (S)
  - > Contrôle négatif (N)
  - > Contrôle positif (MG, ARNr 23S de type mutant) (Pa)
  - > Contrôle positif (MG, ARNr 23S de type sauvage) (Pb)
- Sélectionner **Next step** (Étape suivante)

Pour enregistrer la disposition de la plaque comme modèle pour des utilisations futures

- Sélectionner les puits et assigner des types d'échantillons
  - > Sélectionner  pour enregistrer le modèle
- Indiquer le nom de modèle pour les utilisations futures
  - > Sélectionner **Save** (Enregistrer)

Pour charger un modèle de plaque précédemment enregistré

- Sélectionner  pour charger un modèle de plaque
  - > Sélectionner le modèle dans le menu déroulant
  - > Cocher la case pour charger les types d'échantillons spécifiés dans le modèle de plaque
  - > Sélectionner **Load** (Charger)

### 3 Configure assay(s)

- Pour le **LC480 II** > Sélectionner **ResistancePlus MG (LC480)**
  - > Sélectionner le fichier de compensation de couleur approprié dans le menu déroulant
  - > Sélectionner le **Assay Lot** (Lot de tests) dans le menu déroulant
  - > Sélectionner **Analyse** (Analyser)
  
- Pour le **z 480** > Sélectionner **ResistancePlus MG (z480)**
  - > Sélectionner le fichier de compensation de couleur approprié dans le menu déroulant
  - > Sélectionner le **Assay Lot** (Lot de tests) dans le menu déroulant
  - > Sélectionner **Analyse** (Analyser)
  
- Pour **7500 Fast** et **7500 Fast Dx** > sélectionner **ResistancePlus MG (7500)**
  - > Sélectionner le **Assay Lot** (Lot de tests) dans le menu déroulant
  - > Sélectionner **Analyse** (Analyser)
  
- Pour **CFX96 Dx** et **CFX96 Touch** > Sélectionner **ResistancePlus MG (CFX)**
  - > Sélectionner le **Assay Lot** (Lot de tests) dans le menu déroulant
  - > Sélectionner **Analyse** (Analyser)
  
- Pour les échantillons extraits sans CI (flux de travail reflex) sur le **LC480 II** > sélectionner **REFLEX ResistancePlus MG (LC480)**
  - > Sélectionner le fichier de compensation de couleur approprié dans le menu déroulant
  - > Sélectionner le **Assay Lot** (Lot de tests) dans le menu déroulant
  - > Sélectionner **Analyse** (Analyser)
  
- Pour les échantillons extraits sans CI (flux de travail reflex) sur le **z 480** > sélectionner **REFLEX ResistancePlus MG (z480)**
  - > Sélectionner le fichier de compensation de couleur approprié dans le menu déroulant
  - > Sélectionner le **Assay Lot** (Lot de tests) dans le menu déroulant
  - > Sélectionner **Analyse** (Analyser)
  
- Pour les échantillons extraits sans CI (flux de travail reflex) sur le **7500 Fast** et le **7500 Fast Dx** > Sélectionner **REFLEX ResistancePlus MG (7500)**
  - > Sélectionner le **Assay Lot** (Lot de tests) dans le menu déroulant
  - > Sélectionner **Analyse** (Analyser)
  
- Pour les échantillons extraits sans CI (flux de travail reflex) sur le **CFX96 Dx** et le **CFX96 Touch** > Sélectionner **REFLEX ResistancePlus MG (CFX)**
  - > Sélectionner le **Assay Lot** (Lot de tests) dans le menu déroulant
  - > Sélectionner **Analyse** (Analyser)

#### 24.7 Résultats

Consulter le **Tableau 63** pour obtenir un résumé des résultats possibles d'échantillon signalés.

**REMARQUE** : il est fortement recommandé de confirmer les courbes d'amplification pour tous les échantillons positifs.

Pour corriger tout résultat incertain 

- Sélectionner l'onglet **Resolve** (Corriger)
- Sélectionner un échantillon à corriger
- Inspecter les courbes d'amplification pour les résultats incertains
  - > Sélectionner  pour tracer une courbe de référence sur le graphe
  - > Sélectionner  pour tracer un contrôle positif sur le graphe
  - > Sélectionner  pour tracer un contrôle négatif sur le graphe
  - > Sélectionner  pour confirmer le résultat suggéré ou sélectionner  une autre option
- Confirmer comme **Negative** (Négatif) ou **Inconclusive** (Non concluant) et ajouter des commentaires

**REMARQUE** : pour les échantillons non concluants, effectuer une nouvelle extraction et un nouveau test unique. Si l'échantillon n'est toujours pas concluant, prélever un nouvel échantillon pour effectuer un nouveau test.

Pour finaliser l'analyse et éviter d'autres modifications par l'utilisateur

- > Sélectionner **Authorise Analysis** (Autoriser l'analyse)
- > Sélectionner **Yes** (Oui) pour confirmer
- Pour rejeter l'analyse ou la redémarrer
  - > Sélectionner **Restart Analysis** (Redémarrer l'analyse) ou **Reject Analysis** (Rejeter l'analyse)
  - > Sélectionner une des options pour confirmer

## 24.8 Courbe de référence

Une courbe de référence peut être enregistrée et utilisée pour comparer les échantillons d'une même plaque ou de plaques différentes

- Sélectionner l'échantillon désiré dans le menu **Well Details** (Détails du puits) ou dans le menu **Target Details** (Détails de la cible)
- Dans le menu du graphe d'amplification > sélectionner 
  - > Sélectionner la case à cocher du canal désiré et ajouter une étiquette
  - > Sélectionner **Save** (Enregistrer) pour ajouter le signal comme courbe de référence

Cette courbe de référence s'affiche alors en lien avec le test dans le menu Tests et peut être désactivée à tout moment.

## 24.9 Aperçu des résultats

Tableau 63. Interprétation des résultats par le logiciel d'analyse <i>ResistancePlus</i> ® MG (onglet Results Overview (Aperçu des résultats))						
	Puits	Nom	Test	Résultat	Valeurs de Cq <sup>^</sup>	Résultats généraux
	A1	Échantillon 1	ResistancePlus MG	Négatif	CANAL C : 25.31	Échantillon 1 - Négatif M. genitalium non détecté, CI valide
	A2	Échantillon 2	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 13.35 CANAL B : 24.22 CANAL C : 24.36	Échantillon 2 - Positif M. genitalium détecté, Mutation de l'ARNr 23S non détectée
	A3	Échantillon 3	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 23.32 CANAL B : 31.64	Échantillon 3 - Positif M. genitalium détecté, Mutation de l'ARNr 23S non détectée
	A4	Échantillon 4	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 21.32 CANAL B : 23.22 CANAL C : 24.30	Échantillon 4 - Positif M. genitalium, mutation de l'ARNr 23S détectée
	A5	Échantillon 5	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 23.16 CANAL C : 24.31	Échantillon 5 - Positif M. genitalium, mutation de l'ARNr 23S détectée
	A6	Échantillon 6	ResistancePlus MG	Non valide	CANAL C : 35.02	Échantillon 6 - Non valide CI non valide, refaire le test <sup>1</sup>
ⓘ	A7	Échantillon 7 (Signalé pour correction)	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 26.27 CANAL B : 28.11 <sup>2</sup> CANAL C : 28.92	Échantillon 7 - Positif <sup>2</sup> M. genitalium, mutation de l'ARNr 23S détectée
⊕	A7	Échantillon 7 (Corriger sur non concluant)	ResistancePlus MG	Non valide	CANAL A : 26.27 CANAL C : 28.92	Échantillon 7 - Non valide <sup>3</sup> Résultat non concluant, refaire le test <sup>1</sup>
	B2	Pa (Contrôle positif pour type mutant)	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 25.01 CANAL B : 24.23	Pa - Positif Contrôle positif valide
	B3	Pb (Contrôle positif pour type sauvage)	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 25.90	Pb - Positif Contrôle positif valide
	B4	N (Contrôle négatif)	ResistancePlus MG	Négatif	CANAL C : 26.25	N - Négatif Contrôle négatif valide

<sup>^</sup> Consulter le **Tableau 12** pour les noms de canal des différents instruments

<sup>1</sup> Pour les échantillons ayant un CI non valide et ceux non concluants, refaire l'extraction et le test

<sup>2</sup> Un échantillon avec un Cq incertain est signalé pour correction par ⓘ

<sup>3</sup> Un échantillon considéré non concluant est signalé par ⊕

## 24.10 Exporter des résultats

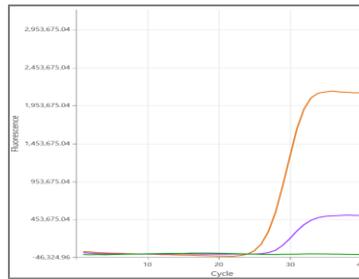
- Pour exporter des résultats
  - > Sélectionner **Exports** (Exportations) dans la barre des tâches
  - > Exporter un ou plusieurs types de rapport suivants : **Cq values list (CSV)** [Liste de valeurs de Cq (CSV)], **Results (CSV)** [Résultats (CSV)], **Generic Amplification CSV** [Amplification générique (CSV)] ou le fichier LIS-integration (Intégration LIS).
  - > Sélectionner **Exports** (Exportations)
- Pour télécharger les exportations
  - > Sélectionner **Reports** (Rapports) dans la barre des tâches
  - > Sélectionner les fichiers et enregistrer
- Sinon exporter un rapport personnalisé

- > Exporter **Amplification Curve Analysis (PDF)** (Analyse de la courbe d'amplification [PDF])
- > Sélectionner les informations incluses souhaitées (graphes, piste d'audit, aperçu des résultats)
- > Sélectionner les paramètres de rapport souhaités pour personnaliser l'ordre des échantillons
- Sélectionner **Exports** (Exportations)
  - > Ouvrir dans **Report Viewer** (Visionneuse de rapport) pour visualiser, enregistrer et imprimer

### 24.11 Exemple de graphes pour contrôle

Les exemples suivants montrent les courbes d'amplification (courbes d'amplification corrigées en fonction des valeurs de référence) et l'aperçu des résultats du logiciel d'analyse **ResistancePlus MG (7500)** pour les différents types d'échantillons de contrôle.

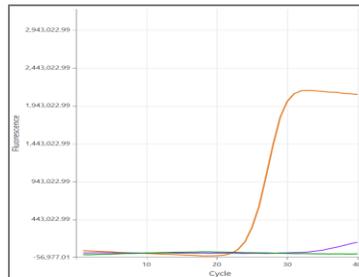
#### 24.11.1 *M. genitalium*, contrôle pour mutation de l'ARNr 23S (Pa)



CANAL A CANAL B CANAL C

Puits	Nom	Test	Résultat	Valeurs de Cq	Résultats généraux
B1	Pa	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 26.36 CANAL C : 27.38	<b>Pa - Positif</b> Contrôle positif valide

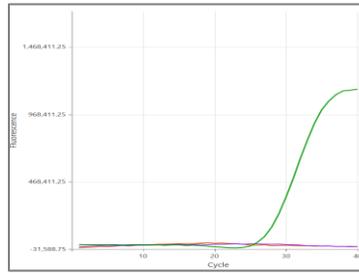
#### 24.11.2 *M. genitalium*, contrôle ARNr 23S de type sauvage (Pb)



CANAL A CANAL B CANAL C

Puits	Nom	Test	Résultat	Valeurs de Cq	Résultats généraux
D12	Pb	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 24.30 CANAL B : 34.29	<b>Pb - Positif</b> Contrôle positif valide

### 24.11.3 *M. genitalium*, contrôle négatif (N) (échantillon négatif)



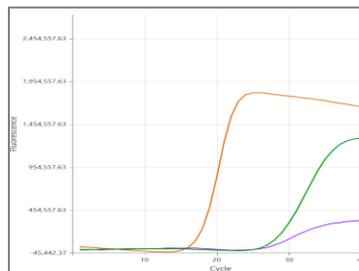
CANAL A CANAL B CANAL C

Puits	Nom	Test	Résultat	Valeurs de Cq	Résultats généraux
D12	N	ResistancePlus MG	Négatif	CANAL C : 27.65	N - Négatif Contrôle négatif valide

### 24.12 Exemples

Les exemples suivants montrent les courbes d'amplification (courbes d'amplification corrigées en fonction des valeurs de référence) et l'aperçu des résultats du logiciel d'analyse **ResistancePlus MG (7500)** pour les différents échantillons.

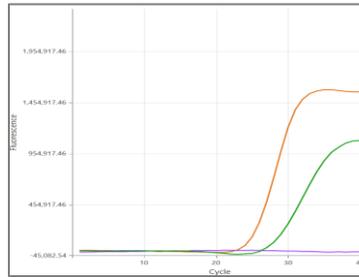
#### 24.12.1 Exemple 1. Échantillon *M. genitalium*, échantillon ARNr 23S de type sauvage avec un nombre faible de copies



CANAL A CANAL B CANAL C

Puits	Nom	Test	Résultat	Valeurs de Cq	Résultats généraux
D2	Échantillon 12	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 16.34 CANAL B : 26.59 CANAL C : 26.00	<b>Échantillon 12 - Positif</b> <i>M. genitalium</i> détecté, Mutation de l'ARNr 23S non détectée

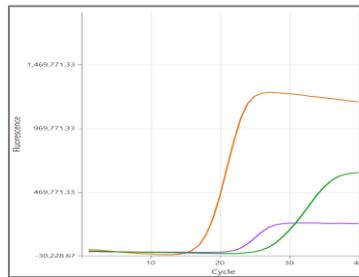
24.12.2 Exemple 2. Échantillon *M. genitalium*, échantillon ARNr 23S de type sauvage avec un nombre faible de copies



CANAL A CANAL B CANAL C

Puits	Nom	Test	Résultat	Valeurs de Cq	Résultats généraux
F1	Échantillon 6	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 29.30 CANAL C : 28.11	<b>Échantillon 6 - Positif</b> M. genitalium détecté, Mutation de l'ARNr 23S non détectée

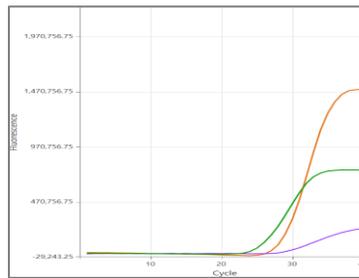
24.12.3 Exemple 3. Échantillon *M. genitalium*, mutation de l'ARNr 23S



CANAL A CANAL B CANAL C

Puits	Nom	Test	Résultat	Valeurs de Cq	Résultats généraux
G3	Échantillon 9	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 18.08 CANAL B : 22.31 CANAL C : 28.03	<b>Échantillon 9 positif</b> M. genitalium, mutation de l'ARNr 23S détectée

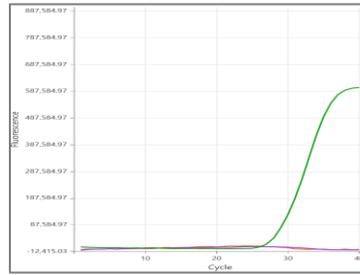
24.12.4 Exemple 4. Échantillon *M. genitalium*, mutation de l'ARNr 23S



CANAL A CANAL B CANAL C

Puits	Nom	Test	Résultat	Valeurs de Cq	Résultats généraux
E3	Échantillon 21	ResistancePlus MG	Positif	CANAL A : 29.08 CANAL B : 29.23 CANAL C : 26.13	<b>Échantillon 21 - Positif</b> M. genitalium, mutation de l'ARNr 23S détectée

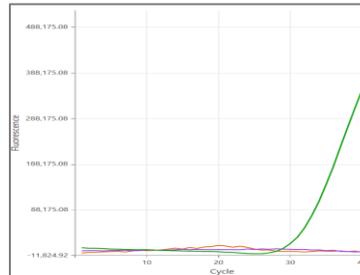
24.12.5 Exemple 5. Échantillon négatif



CANAL A CANAL B CANAL C

Puits	Nom	Test	Résultat	Valeurs de Cq	Résultats généraux
E3	Échantillon 73	ResistancePlus MG	Négatif	CANAL C : 29.23	Échantillon 73 - Négatif M. genitalium non détecté, CI valide

24.12.6 Exemple 6. Échantillon Non valide



CANAL A CANAL B CANAL C

Puits	Nom	Test	Résultat	Valeurs de Cq	Résultats généraux
E3	Échantillon 35	ResistancePlus MG	Non valide	CANAL C : 31.16	Échantillon 35 - Non valide CI non valide, refaire le test

Dans cet exemple, le signal CI est en dehors des limites de seuil du canal. Pour les échantillons ayant un CI non valide, refaire l'extraction, puis refaire le test.

24.12.7 Exemple 7. Échantillons à corriger – Signal négatif

Dans cet exemple, le CANAL B (JOE) a été marqué pour correction et le logiciel suggère que l'échantillon est négatif (Figure 30).

Figure 30. Échantillons à corriger tels qu'ils sont visualisés dans le menu Resolve (Corriger) du logiciel d'analyse

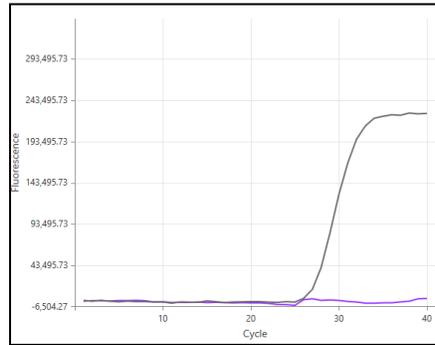
Target	Channel	Cq	Curve result	Info	
MgPa	FAM	21.32	Positive	M. genitalium detected	
23S rRNA mutation	JOE	—	Negative	Mutant not detected	
IC	TAMRA	27.31	Positive		

Pour déterminer l'action appropriée à prendre en vue de la correction, tracer un autre échantillon ou contrôle pour une comparaison des signaux.

- Sélectionner  pour tracer une courbe de référence positive (précédemment enregistrée) pour le CANAL B (JOE)

- Sélectionner  pour tracer un contrôle positif de la série
- Sélectionner  pour tracer un contrôle négatif de la série

**CANAL B**



Après l'inspection des courbes d'amplification (ci-dessus), on peut voir qu'il n'y a aucune amplification dans le canal.

Le résultat est corrigé en sélectionnant l'icône  , pour confirmer la suggestion de négatif du logiciel. Le résultat corrigé est affiché dans la **Figure 31** ci-dessous.

**Figure 31. Résultat corrigé tel qu'il est visualisé dans le menu Resolve (Corriger) du logiciel d'analyse**

Target	Channel	Cq	Result	Info	
MgPa	FAM	21.32	Positive	M. genitalium detected	
23S rRNA mutation	JOE	—	Negative	Mutant not detected	
IC	TAMRA	27.31	Positive		

24.12.8 **Exemple 8. Échantillons à corriger – Signal non concluant**

Dans cet exemple, le CANAL B (JOE) a été marqué pour correction et le logiciel suggère que l'échantillon est positif (**Figure 32**).

**Figure 32. Échantillons à corriger tels qu'ils sont visualisés dans le menu Resolve (Corriger) du logiciel d'analyse**

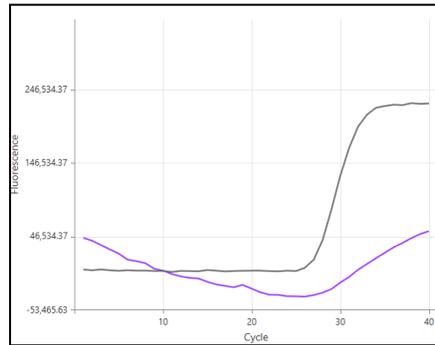
Target	Channel	Cq	Curve result	Info	
MgPa	FAM	26.27	Positive	M. genitalium detected	
23S rRNA mutation	JOE	28.11	Positive <input checked="" type="checkbox"/>	Mutant detected	
IC	TAMRA	28.92	Positive		

Pour déterminer l'action appropriée à prendre en vue de la correction, tracer un autre échantillon ou contrôle pour une comparaison des signaux.

- Sélectionner  pour tracer une courbe de référence positive (précédemment enregistrée) pour le CANAL B (JOE)
- Sélectionner  pour tracer un contrôle positif de la série

- Sélectionner  pour tracer un contrôle négatif de la série

**CANAL B**



Après l'inspection des courbes d'amplification (ci-dessus), il y a une amplification potentielle dans le canal.

Il est recommandé de corriger en Inconclusive (non concluant), en sélectionnant l'icône  et en sélectionnant Inconclusive (Non concluant) dans le menu déroulant. Des commentaires peuvent être ajoutés à la piste d'audit de l'échantillon. Refaire l'extraction et le test sur l'échantillon. Le résultat corrigé est affiché dans la **Figure 33** ci-dessous.

Voir le **Tableau 63**, échantillon 7, pour découvrir comment les résultats sont affichés avant et après la correction dans l'onglet **Results Overview** (Aperçu des résultats).

**Figure 33. Résultat corrigé tel qu'il est visualisé dans le menu Resolve (Corriger) du logiciel d'analyse**

Target	Channel	Cq	Result	Info	
MgPa	FAM	26.27	Positive	M. genitalium detected	
23S rRNA mutation	JOE	28.11	Inconclusive	Mutant detected	
IC	TAMRA	28.92	Positive		

## 25 Glossaire



Conformité européenne  
Pour usage de diagnostic *in vitro*



Référence catalogue



Code de lot



Représentant autorisé  
Dans la Communauté européenne



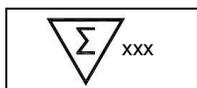
Fabricant



Date de fabrication



Limite de température



Quantité suffisante pour  
xxx déterminations



Date de péremption



Importateur européen



Marque d'évaluation de la  
conformité au Royaume-Uni

Les produits SpeedX peuvent être couverts par un ou plusieurs brevets locaux ou étrangers. Consulter [www.plexpcr.com/patents](http://www.plexpcr.com/patents) pour obtenir des informations complètes sur les brevets.

**PlexPCR**<sup>®</sup>, **ResistancePlus**<sup>®</sup>, **PlexPrime**<sup>®</sup> et **PlexZyme**<sup>®</sup> sont des marques commerciales appartenant à SpeedX. Les autres droits d'auteur et marques de commerce appartiennent à leurs détenteurs respectifs.

© Copyright 2024 SpeedX Pty. Ltd.