



## **GBS Test**

### **Instructions d'utilisation**

**Réservé à un usage professionnel**

**REF**      **GBS-P1-10**

**À utiliser avec le système FlashDx-1000-E**

**CE**      **IVD**      **Pour les diagnostics *in vitro***

**Révision A. mai 2022**

## Nom commercial

GBS Test

## Dénomination commune ou usuelle

GBS Test

## Conditionnement

10 tests/boîte

## Usage prévu

GBS Test est un test qPCR par micro-réseau ADN rapide conçu pour la détection qualitative *in vitro* du *Streptococcus* du groupe B (SGB) dans les écouvillons vaginaux prélevés chez des personnes présentant ou non des symptômes, ou d'autres motifs épidémiologiques de suspecter une infection à SGB. Le test est effectué à l'aide du FlashDx-1000-E ou d'autres systèmes FlashDx compatibles.

Les résultats positifs indiquent la présence de l'ADN bactérien du SGB ; une corrélation clinique avec les antécédents du patient et d'autres informations de diagnostic est nécessaire pour déterminer le statut infectieux du patient. Des résultats positifs n'excluent pas une infection virale ou une co-infection avec d'autres bactéries. L'agent détecté peut ne pas être la cause définitive de la maladie. Les résultats négatifs n'excluent pas une infection par le SGB et ne doivent pas être utilisés comme seule base pour le traitement ou d'autres décisions de prise en charge du patient. Les résultats négatifs doivent être mis en parallèle avec des observations cliniques, les antécédents du patient et des informations épidémiologiques.

## Principe de la procédure

GBS Test est un test de diagnostic *in vitro* pour la détection qualitative de l'acide nucléique de la bactérie streptococcus de groupe B. Le test est effectué sur le système automatisé de détection d'acides nucléiques FlashDx-1000-E. Le test est une cartouche jetable à usage unique contenant des réactifs lyophilisés et liquides pour le traitement de l'échantillon, la transcription inverse, l'amplification et la détection de l'ADN. Une fois que l'utilisateur ferme le couvercle après l'ajout de l'échantillon, la cartouche devient autonome, ce qui permet de réduire les risques de contamination croisée entre les échantillons.

Un micro-réseau de sondes spécifiques est prépositionné sur la surface interne de la chambre d'amplification afin de détecter les produits de l'amplification spécifique. Lorsque l'ADN cible est amplifié, les gouttes correspondantes du micro-réseau peuvent s'illuminer de manière exponentielle, comme lors d'une qPCR en temps réel telle que l'analyse TaqMan. Ce test utilise la séquence conservée des gènes *cfb* et *sip* de *Streptococcus agalactiae* (SGB) comme région ciblée. Dans la cartouche, des amorces et des sondes de RNase P (RP) humaine sont

également utilisées comme contrôle interne pour surveiller l'ensemble du processus, depuis le traitement de l'échantillon jusqu'à l'amplification, l'hybridation de la biopuce et la détection du signal.

L'utilisateur transfère d'abord l'échantillon depuis le milieu de transport universel (UTM), la solution saline à 0,9 % ou un milieu de transfert validé recommandés où l'écouvillon de prélèvement d'échantillon a été conservé, vers la chambre à échantillon de la cartouche et referme le couvercle de la chambre. La cartouche est insérée dans le quai de chargement de l'instrument conformément aux instructions affichées à l'écran. Une fois que l'utilisateur a cliqué pour lancer le processus, le système gère automatiquement le traitement de l'échantillon et le processus d'amplification et de détection. L'instrument recueille les signaux de fluorescence de chaque goutte du micro-réseau en temps réel pendant l'amplification et génère automatiquement le résultat du test par l'analyse des courbes d'amplification (changement du signal de fluorescence).

## Principaux éléments

Chaque boîte contient les éléments suivants, présentés dans le tableau 1 :

**Tableau 1 : Principaux éléments**

N° de série	Composants	10 tests/boîte		Ingrédients principaux
		Spécification	Quantité	
1	Cartouche	1 test/pochette	10 pochettes	Amorces, sondes, dNTP, MgCl <sub>2</sub> , ADN polymérase et tampon.
2	Pipettes de transfert à usage unique	/	10 - 12	/

## Conditions de stockage et manipulation

1. Conservez la cartouche SGB entre 2 et 8 °C.
2. N'ouvrez pas la pochette de la cartouche tant que vous n'êtes pas prêt à effectuer le test. N'utilisez pas la cartouche si la pochette est déchirée. Une fois la pochette ouverte, utilisez la cartouche dans les 15 minutes qui suivent.
3. Voir les dates de production et de péremption sur l'étiquette.

## Instrument compatible

FlashDx-1000-E et autres systèmes automatisés de détection d'acides nucléiques compatibles

## Exigences relatives aux échantillons

1. Type d'échantillon : écouvillon vaginal
2. Collecte, transport et stockage des échantillons
  - 2.1 Procédure de prélèvement par écouvillonnage vaginal

Insérez délicatement l'écouvillon dans le vagin, sur environ 5 cm par rapport à l'ouverture du vagin, et tournez-le dans le sens des aiguilles d'une montre pendant 10 à 30 secondes. Veillez à ce que l'écouvillon touche les parois du vagin afin que l'humidité soit absorbée par l'écouvillon, puis retirez l'écouvillon sans toucher la peau. Placez l'écouvillon dans le tube contenant 3 ml ou 5 ml d'UTM ou de solution saline recommandés. Faites tourner l'écouvillon 5 fois en le frottant contre la paroi du tube. Cassez l'écouvillon au niveau de la ligne indiquée si nécessaire et rebouchez avec soin le tube de prélèvement.

### 2.2 Exigences relatives aux récipients pour échantillons

Les écouvillons de prélèvement doivent être en rayonne (fibre de polyester, embout en polyester ou en rayonne), en flocage (fibre de nylon) ou d'autres écouvillons qui ne soient ni en coton, ni en alginate de calcium, et le manche doit être dans un matériau autre que le bois. Si les clients choisissent d'utiliser un milieu de transport particulier, veuillez le vérifier avant d'utiliser nos produits. Il a été vérifié que des solutions de conservation telles que la solution saline et le tampon TE peuvent également être utilisées.

**Remarque : Les UTM/VTM inactivants contenant du sel de guanidine ne sont PAS compatibles avec ce test.**

### 2.3 Transport et stockage des échantillons

Les spécimens doivent être testés dans les 30 minutes à température ambiante et dans les 4 heures entre 2 et 8 °C. Les échantillons ne doivent pas être conservés plus de 48 heures entre 2 et 8 °C. Certains UTM permettent de conserver les échantillons pendant une période plus longue, mais ils doivent être validés afin d'éviter la dégradation de l'échantillon. S'il est prévu que les échantillons soient testés après 24 heures, les échantillons doivent être conservés à -70 °C (pas plus de 30 jours) et expédiés dans de la glace carbonique. Évitez les congélations et décongélations répétées. Si l'échantillon n'est pas manipulé avec soin, il est possible d'obtenir un résultat faussement négatif. Les informations nécessaires, telles que le numéro de l'échantillon, la date d'apparition des symptômes et la date de prélèvement de l'échantillon, doivent être collectées et jointes à l'échantillon lors du prélèvement, de l'expédition et du stockage.

## Méthode de détection

La cartouche de test contient tous les réactifs nécessaires et aucune préparation de réactif

supplémentaire n'est requise.

## 1. Test des échantillons

### 1.1 Préparation de la cartouche de test

Ouvrez la pochette en aluminium et sortez la cartouche de test.

Remarque : Avant d'ouvrir la pochette, vérifiez que le panel de test imprimé sur la pochette correspond bien au GBS Test. Une fois la pochette d'aluminium ouverte, il est nécessaire d'insérer l'échantillon et de faire fonctionner la cartouche de test dans les 15 minutes. Un stockage prolongé peut affecter les performances des tests.



**Image 1.** Gauche : cartouche ouverte présentant la pastille lyophilisée blanche au fond de la chambre d'échantillon ; Droite : assurez-vous qu'il ne reste pas d'aluminium sur le dessus de la chambre à échantillon.

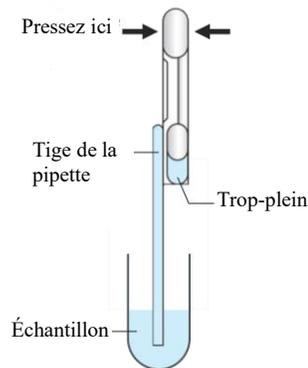
### 1.2 Pipetage

1.2.1 Placez la cartouche de test avec l'étiquette vers le haut et le code-barres vers l'avant. Assurez-vous que la pastille lyophilisée blanche se trouve au fond de la chambre à échantillon. Si ce n'est pas le cas, tapotez doucement la cartouche sur la table jusqu'à ce que la pastille lyophilisée tombe au fond.

1.2.2 Retirez la feuille d'étanchéité en aluminium du dessus de la chambre à échantillon pour exposer complètement l'ouverture. Utilisez ensuite une pipette de transfert jetable (fournie) ou une pipette de laboratoire pour transférer 120  $\mu$ l de solution d'échantillon dans la chambre à échantillon et dissoudre complètement le réactif lyophilisé. Veillez à ne pas introduire de bulles d'air lors du pipetage.

Remarque : Lors de l'utilisation d'une pipette de transfert jetable, pressez complètement la poire du haut et placez ensuite l'embout de la pipette bien en dessous de la surface du liquide dans le tube de transport de l'échantillon. Relâchez lentement la poire du haut pour remplir entièrement la tige de la pipette avec l'échantillon avant de la retirer du tube de prélèvement. Un peu de

liquide peut également se retrouver dans le réservoir de débordement. Insérez la pointe de la pipette dans la chambre à échantillon sans toucher le réactif lyophilisé, pressez à nouveau complètement la poire du haut de la pipette de transfert pour vider le liquide dans la tige de la pipette.



**Image 2.** Pipette de transfert

- 1.2.3 Fermez soigneusement le couvercle de la chambre à échantillon jusqu'à ce qu'il soit au même niveau que la surface supérieure de la cartouche de test. Vérifiez l'étanchéité du joint et l'absence d'espace entre le couvercle de la chambre et le corps de la cartouche.

Remarque : il est important de retirer complètement la feuille d'aluminium pour assurer l'étanchéité entre le couvercle et la chambre à échantillon.

### 1.3 Test de fonctionnement

Important : cette section ne présente que les étapes de base de la réalisation du test. Veuillez vous référer au manuel d'utilisation du FlashDx-1000-E pour des instructions complètes.

- 1.3.1 Saisissez les informations : Les informations concernant l'échantillon sont saisies en scannant le code-barres de l'échantillon ou manuellement à l'aide du clavier à l'écran.
- 1.3.2 Insérez la cartouche : Retirez le cache de protection transparent de la cartouche. Tenez la cartouche de test avec le côté puce orienté vers la gauche (le code-barres 2D est orienté vers l'avant). Appuyez sur le bouton  sur l'écran tactile de l'instrument et attendez que le quai de chargement se déploie. Placez la cartouche de test dans le quai de chargement et appuyez sur la cartouche jusqu'à sentir un léger clic. À ce moment-là, l'instrument doit détecter la présence d'une cartouche. Cliquez à nouveau sur le bouton  de l'écran tactile pour rétracter le quai de chargement.



**Image 3.** Gauche : une fois entièrement refermé, le couvercle du port d'échantillonnage se trouve au même niveau que le reste de la partie supérieure de la cartouche. Droite : insérez la cartouche dans le quai de chargement de l'instrument.

1.3.3 Commencez le test : L'instrument reconnaît automatiquement le code QR sur la cartouche de test et sélectionne le test approprié. Sélectionnez le type d'échantillon correspondant si nécessaire. Après avoir vérifié que le programme est le bon, cliquez sur le bouton  de l'écran tactile pour commencer le test. L'instrument devrait commencer à exécuter le test automatiquement.

1.3.4 Résultat du test : le processus de test dure environ 50 minutes. L'écran affiche la progression et les résultats du test sont sauvegardés une fois le test terminé.

### Rapport de résultats

Une fois le test terminé, l'instrument indique automatiquement que les résultats sont négatifs, positifs, indéterminés ou non valides.

### Interprétation des résultats

Les résultats du test sont interprétés automatiquement par l'instrument en fonction des contrôles de référence internes et des cibles détectées. La présence d'un résultat positif du contrôle interne ou d'au moins une cible positive est une condition préalable pour confirmer la validité du résultat du test. Lorsque le résultat du test est valide, la cible est étiquetée  $\oplus$ ,  $\ominus$  ou « UD », ce qui correspond respectivement à un résultat positif, négatif ou indéterminé.

**Tableau 2. Résultats possibles pour le SGB**

Résultats du test	<i>cfb</i> SGB	<i>sip</i> SGB	Contrôle des pathogènes respiratoires (RP)
SGB positif	Tout test <i>cfb</i> ou <i>sip</i> testé positif ( + )		+ / –
SGB négatif	–	–	+
SGB Indéterminé	Tout test <i>cfb</i> ou <i>sip</i> UD alors que le reste a été testé négatif ( - )		+
Invalide	–	–	–

### Tester à nouveau

Pour retester un résultat UD ou invalide, utilisez une nouvelle cartouche. Le résultat invalide peut résulter d'une quantité insuffisante d'échantillon, d'une cartouche défectueuse ou d'une interférence de l'échantillon. Si possible, prélevez un nouvel échantillon, sinon utilisez l'échantillon restant de l'échantillon d'origine. Suivez la procédure du test décrite précédemment. Mettez une paire de gants propres et utilisez une nouvelle pipette de transfert.

Si le résultat du test n'est toujours pas valide, il est recommandé de ne pas poursuivre les tests avec cet échantillon. Certains échantillons peuvent contenir un niveau trop élevé d'inhibiteurs qui gênent le test.

### Limites de la méthode de test

1. Les résultats de ce kit doivent être mis en parallèle avec les symptômes cliniques du patient et d'autres résultats d'examen médicaux pertinents en vue d'une analyse complète. Ils ne doivent pas être utilisés comme base unique pour la prise en charge du patient.
2. Il existe un risque de faux négatifs si l'acide nucléique bactérien présente des variations de séquence.
3. De mauvaises conditions de prélèvement, de transport et de manipulation des échantillons, ainsi que des méthodes et des conditions d'expérimentation inadaptées peuvent conduire à des résultats faussement négatifs ou faussement positifs.
4. Les valeurs prédites positives et négatives dépendent largement du taux de prévalence. Les performances du test peuvent varier en fonction du taux de prévalence et de la population échantillonnée.
5. Des fragments d'acide nucléique peuvent apparaître et rester dans l'organisme pendant longtemps et n'ont rien à voir avec l'activité bactérienne. Un résultat positif ne signifie pas nécessairement que l'infection active par la bactérie ou les symptômes cliniques ont été causés par la bactérie.
6. Des résultats non valides peuvent résulter d'un échantillon insuffisant.
7. D'autres interférences ou d'autres inhibiteurs de la PCR qui n'ont pas été vérifiés peuvent entraîner des résultats faussement négatifs.

### Caractéristiques des performances

#### 1. Évaluation clinique

Le GBS Test a été évalué avec 96 échantillons valides d'écouvillons vaginaux.

Au total, 97 échantillons ont été prélevés sur des patients suspectés d'une infection à SGB par le prestataire de soins de santé, inactivés et renvoyés au laboratoire. Ces échantillons ont été dilués dans une solution saline, puis congelés et stockés dans un congélateur à -70 °C. Au moment du test, ces échantillons ont été décongelés et testés en laboratoire en parallèle, soit par le FlashDx GBS kit, soit par un test qPCR basé sur l'extraction approuvé par la NMPA, en respectant le protocole suggéré par le fabricant. L'un de ces échantillons a été jugé invalide en raison de la non-détection de contrôle RP, ce qui suggère des défaillances au cours du processus de collecte des échantillons. Les 96 autres résultats ont ensuite été analysés et

comparés et sont synthétisés ci-dessous (tableau 3).

**Tableau 3. Résultats des performances pour SGB**

		Test qPCR	
		Positif	Négatif
FlashDx GBS Test	Positif	77	0
	Négatif	0	19
	Total	77	19
PPA*		100 % (IC 95 % : 95,3 % - 100 %)	
NPA*		100 % (IC 95 % : 86,3 % - 100 %)	

\* Ces valeurs dépendent de 95 % la prévalence de la maladie, qui est estimée à 25 % chez les femmes enceintes d'après les estimations des CDC (<https://www.cdc.gov/groupbstrep/about/fast-facts.html>).

## Performances analytiques

### 1. Sensibilité analytique (limite de détection, LoD)

Des études ont été réalisées pour déterminer la LoD analytique du GBS Test. La LoD a été établie en utilisant un lot de réactifs et une dilution en série du matériel de référence de SGB (ATCC13813) préparés dans un UTM et une matrice clinique d'écouvillon présumé négatif. Le niveau de concentration le plus bas pour lequel les taux de réussite observés étaient supérieurs ou égaux à 95 % dans l'étude de détermination de la LoD était de 1 000 copies/ml pour toutes les cibles combinées. La vérification de l'estimation de la LoD a été effectuée sur différents lots de réactifs en 20 réplicats (cartouches) avec un taux de détection supérieur ou égal à 95 %.

### 2. Reproductibilité

Différents lots de cartouches ont été testés avec des échantillons de référence Enterprise precision (échantillon de référence positif faible avec env. 3 fois la LoD et échantillon de référence négatif). Chaque échantillon de référence a été testé avec 10 cartouches. Tous les résultats étaient concordants.

### 3. Spécificité analytique

#### 3.1 Réaction croisée

Les amorces et les sondes cibles sont conçues sur la base de la région conservée des gènes *cfb* and *sip* . Le test ne présente pas de réaction croisée avec des échantillons positifs pour divers agents pathogènes, notamment *legionella*, *bacillus pertussis*, *haemophilus influenzae*, le *staphylocoque doré*, *streptococcus pneumoniae*, *streptococcus pyogenes*, *klebsiella pneumoniae* et *candida albicans*. Une analyse in

*silico* supplémentaire n'a pas révélé de chevauchement significatif des séquences de réaction croisée avec *candida glabrata*, *chlamydia trachomatis*, *clostridium difficile*, *neisseria gonorrhoeae*, rotavirus et norovirus et *yersinia enterocolitica*.

### 3.2 Substances interférentes

Des substances potentiellement interférentes, notamment la mucine purifiée, le sang et d'autres médicaments énumérés dans le tableau ci-dessous, ont été testées dans les échantillons à la concentration indiquée. Aucune interférence significative n'a été détectée au niveau testé, sur la base d'une triple détection du matériau de référence à une concentration de 3 fois la LoD.

**Tableau 4. Substance interférente**

Substance	Concentration
mucine purifiée	50 µg/ml
sang total	0,1 % (v/v)
tobramycine	100 µg/ml
azithromycine	100 µg/ml
bêta-estradiol	1,2 ng/ml
doxycycline	100 ug/mL

### Limites

1. Ce test ne peut être utilisé que pour le diagnostic *in vitro*.
2. Le test ne contient aucune substance infectieuse et ne peut infecter ni les humains ni les animaux. L'échantillon à tester doit être traité comme une source potentielle d'infection. Il doit être utilisé dans un laboratoire microbiologique et biomédical équipé d'installations et de protocoles de biosécurité afin de protéger les opérateurs contre tout risque d'infection pendant le travail.
3. Le laboratoire clinique doit respecter de manière stricte les *Administrative Measures for Clinical Gene Amplification Laboratories of Medical Institutions* (WBYZF [2010] n° 194 ou version en vigueur) et les autres normes réglementaires relatives aux laboratoires de biologie moléculaire et aux laboratoires d'amplification génique clinique.
4. Les types d'échantillons ainsi que les méthodes de collecte et de manipulation des échantillons spécifiés dans le mode d'emploi doivent être strictement respectés. Dans le cas contraire, les performances du test ne peuvent être garanties.

### Interprétation de symboles

Symboles	Nom de la marque	Symboles	Nom de la marque
	Code du lot		Date de péremption

	Limite de température		Ne pas réutiliser
	Fabricant		Date de production
	Numéro de catalogue		Consultez le manuel d'instructions
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Marquage CE - Conformité européenne
	Représentant autorisé dans la Communauté européenne		Risques biologiques

### Contrôle de la qualité (CQ)

L'utilisation de ce kit de test ne nécessite pas de CQ externes (contrôle de fonctionnement). Les échantillons de contrôle positif et négatif ne sont pas fournis avec le kit.

Si certaines procédures de laboratoire exigent des contrôles pour démontrer que le GBS Test fonctionne correctement, ceux-ci peuvent être commandés séparément et utilisés dans des cartouches indépendantes pour le contrôle de la qualité (FlashDx cat. n° QCSL20101). D'autres bactéries SGB inactivées par la chaleur ou de l'ADN purifié peuvent également faire l'affaire, mais une vérification doit être effectuée à l'avance.

Pour exécuter les échantillons de contrôle, dissolvez l'échantillon de contrôle FlashDx comme indiqué dans les instructions, ou diluez d'abord le contrôle positif à la concentration appropriée pendant l'utilisation d'autres échantillons de contrôle. Mettez 120 µl de contrôle positif ou de contrôle négatif dans une cartouche et effectuez le test comme un échantillon normal. Le système doit générer un rapport de détection positive du SGB et un rapport négatif, respectivement. Suivez les instructions situées sur les échantillons de contrôle concernant le stockage, la date de péremption et les cycles de congélation-décongélation comme spécifié dans les instructions du fournisseur.

### Références

- Centers for Disease Control and Prevention (<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/index.html>).
- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical laboratories (<http://www.cdc.gov/biosafety/publications/>).
- Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline.

### Informations de contact

Nom du déclarant/fabricant : FlashDx Shenzhen Inc.

Adresse : Suite C705, Bâtiment A3; Suite 4C, Bâtiment B6 et Suite A201, Bâtiment B5, China Merchants Guangming Science Park, District de Guangming, Shenzhen, Guangdong, R. P. de Chine.

Tél. : +86 (0)755-86965752