

19 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
COURBEVOIE

11 N° de publication :

3 148 038

(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

21 N° d'enregistrement national :

24 04095

51 Int Cl⁸ : C 12 Q 1/689 (2024.01), C 12 Q 1/14, 1/684, C 12 R
1/46, C 07 H 21/00

12

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

22 Date de dépôt : 19.04.24.

30 Priorité :

71 Demandeur(s) : GEN PROBE INCORPORATED
Société américaine — US.

43 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 25.10.24 Bulletin 24/43.

56 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : Ce dernier n'a pas été
établi à la date de publication de la demande.

60 Références à d'autres documents nationaux
apparentés : Division demandée le 19/04/24 béné-
ficiant de la date de dépôt du 13/08/19 de la
demande initiale n° 1909177.

72 Inventeur(s) : L. EATON Barbara, GROBARCZYK
Benjamin, OZOG Yves, CLOSE Renaud et FRANZIL
Laurent.

73 Titulaire(s) : GEN PROBE INCORPORATED Société
américaine.

Demande(s) d'extension :

74 Mandataire(s) : CABINET NUSS.

54 COMPOSITIONS ET PROCÉDÉS DE DÉTECTION D'ACIDE NUCLÉIQUE À STREPTOCOQUE DE GROUPE B.

57 COMPOSITIONS ET PROCÉDÉS DE DÉTECTION
D'ACIDE NUCLÉIQUE À STREPTOCOQUE DE GROUPE
B

La présente invention concerne des oligomères d'acides
nucléiques, comprenant des oligomères d'amplification et
des sondes de détection, destinés à la détection de l'acide
nucléique à streptocoque du groupe B (GBS ; Streptococ-
cus agalactiae). L'invention concerne également des procé-
dés d'amplification et de détection spécifiques d'acides
nucléiques à l'aide des oligomères décrits, ainsi que des
mélanges réactionnels et des kits correspondants.

Figure à publier avec l'abrégé : aucune figure

FR 3 148 038 - A1



Description

Titre de l'invention : COMPOSITIONS ET PROCÉDÉS DE DÉTECTION D'ACIDE NUCLÉIQUE À STREPTOCOQUE DE GROUPE B

[0001] CONTEXTE DE L'INVENTION

[0002] Le streptocoque de groupe B (GBS), ou *Streptococcus agalactiae*, est une bactérie gram-positive associée à une colonisation transitoire des membranes muqueuses dans tout le corps, comprenant le vagin, le tractus gastro-intestinal, et l'urètre. Le GBS cause rarement des maladies chez des personnes en bonne santé, mais peut causer une maladie grave chez les patients immunodéprimés, les personnes âgées et les nouveau-nés. L'infection néonatale causée par une transmission verticale pendant le travail et l'accouchement est particulièrement préoccupante. La transmission d'une mère colonisée de manière asymptomatique au nouveau-né peut entraîner une infection à GBS invasive à début précoce, principale cause de septicémie et de méningite chez les nouveau-nés aux États-Unis. L'infection à GBS invasive à début précoce chez le nouveau-né peut entraîner la mort ou des handicaps à long terme, tels qu'un retard mental, une perte auditive ou visuelle. Buchan *et al.*, *J. Clin. Microbiol.* 53:443 à 448, 2015.

[0003] L'identification du GBS lors du dépistage systématique entraîne l'administration d'une prophylaxie intra-partum visant à atténuer la transmission de bactéries et à réduire le risque de maladie invasive. La mise en œuvre de cette stratégie de dépistage et de prophylaxie a permis de réduire l'incidence du GBS à début précoce de 60 à 86 %. Lin *et al.*, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 184 :1204-1210, 2001. Depuis 2010, les lignes directrices des CDC comprennent le test de diagnostic moléculaire comme option en parallèle à la culture ou en plus de celle-ci. Les tests actuels comprennent les tests Cepheid GBS LB et BD max GBS, qui ciblent le gène *CFB*.

[0004] Il existe un besoin, dans le domaine, de tests GBS présentant une sensibilité améliorée et/ou du potentiel de protection contre la variance d'isolat d'un seul gène, comprenant, par exemple, des tests capables de détecter les sérotypes GBS Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VI, VII, VIII et IX, comprenant l'isolat non hémolytique.

Résumé de l'invention

[0005] Selon un aspect, la présente invention fournit une composition destinée à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon. Dans certains modes de réalisation, la composition comprend une première combinaison d'oligomères d'amplification et/ou une seconde combinaison d'oligomères d'amplification, où

- [0006] (I) la première combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, où les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies parmi
- [0007] (a) (A) SEQ ID N^o : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0008] (B) SEQ ID N^o : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0009] (b) (A) SEQ ID NO : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0010] (B) SEQ ID N^o : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0011] et
- [0012] (II) la seconde combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, où les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprennent, respectivement, des première (A') et seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies parmi
- [0013] (a) (A') une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N^o : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0014] (B') SEQ ID N^o : 13 ou SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0015] (b) (A') SEQ ID N^o : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0016] (B') SEQ ID N^o : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0017] (c) (A') SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0018] (B') SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0019] (d) (A') SEQ ID N^o : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0020] (B') SEQ ID N^o : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.

- [0021] Dans certains modes de réalisation d'une composition comme ci-dessus, où la composition comprend la première combinaison d'oligomères d'amplification, la composition comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*. Dans certains de ces modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0022] Dans certains modes de réalisation d'une composition comme ci-dessus, où les séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(a), la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) comprend au moins la séquence de SEQ ID N° : 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certains de ces modes de réalisation, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est présente dans la séquence de SEQ ID N° : 27, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; dans certaines de ces variations, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est SEQ ID N° : 12 ou SEQ ID N° : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, où les séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(a), la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Les première (A') et seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* de (II)(a) particulièrement appropriées comprennent
- [0023] (i) (A') SEQ ID N° : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

- [0024] (B') SEQ ID N^o : 13, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0025] (ii) (A') SEQ ID N^o : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0026] (B') SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0027] (iii) (A') SEQ ID N^o : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0028] (B') SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0029] (iv) (A') SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0030] (B') SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0031] Dans certains modes de réalisation d'une composition comme ci-dessus, où la composition comprend la première combinaison d'oligomères d'amplification, la composition comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*. Dans certains de ces modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(b) et la séquence d'hybridation cibles de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont des séquences d'hybridation cibles de (II)(d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridations cibles de (II)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 22 ou SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; ou les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable tel que,

par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un extincteur non fluorescent.

- [0032] Dans certains modes de réalisation d'une composition destinée à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon comme celui susmentionné, la composition comprend à la fois les première et seconde combinaisons d'oligomères d'amplification.
- [0033] Dans un autre aspect, la présente invention fournit une composition destinée à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon, où la composition comprend une combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS. Les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* particulièrement appropriés comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies parmi
- [0034] (a) (A) SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0035] B) SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0036] (b) (A) SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0037] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0038] Dans certaines variantes, la composition comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*. Dans certains de ces modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes,

l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent. Dans certaines variantes d'une composition comme ci-dessus, la composition comprend en outre une seconde combinaison d'oligomères d'amplification capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS.

- [0039] Dans un autre aspect, la présente invention fournit une composition destinée à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon, où la composition comprend une combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS. Les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* particulièrement appropriés comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies parmi
- [0040] (a) (A) une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0041] (B) SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0042] (b) (A) SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0043] (B) SEQ ID N° : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0044] (c) (A) SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0045] (B) SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0046] (d) (A) SEQ ID N° : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0047] (B) SEQ ID N° : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0048] Dans certains modes de réalisation, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) comprend au moins la séquence de SEQ ID N° : 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certains de ces modes de réalisation, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de

(a) est présente dans la séquence de SEQ ID N° : 27, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; dans certaines de ces variations, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est SEQ ID N° : 12 ou SEQ ID N° : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Les première (A') et seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* de (a) particulièrement appropriées comprennent

- [0049] (i) (A) SEQ ID N° : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0050] (B) SEQ ID N° : 13, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0051] (ii) (A) SEQ ID N° : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0052] (B) SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0053] (iii) (A) SEQ ID N° : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0054] (B) SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0055] (iv) (A) SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0056] (B) SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0057] Dans certaines variantes, la composition comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*. Dans certains de ces modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (b) et la séquence d'hybridation cibles de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont des séquences d'hybridation cibles de (d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; les première et seconde séquences d'hybridation

cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridations cibles de (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 22 ou SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; ou les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un extincteur non fluorescent. Dans certaines variantes d'une composition comme ci-dessus, la composition comprend en outre une seconde combinaison d'oligomères d'amplification capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS.

[0058] Dans un autre aspect, la présente invention propose une formulation aqueuse pour l'amplification de l'acide nucléique à GBS comprenant une composition comme ci-dessus et un tampon organique. Dans certains modes de réalisation, la formulation aqueuse comprend en outre au moins un composant choisi parmi une enzyme ADN polymérase, une enzyme transcriptase inverse, un oligomère de sonde de détection et un agent gonflant (*par exemple*, le tréhalose, le raffinose ou une combinaison de ceux-ci). Dans certains modes de réalisation, la formulation aqueuse contient un sel inorganique à une concentration inférieure ou égale à 4 mM.

[0059] Dans un autre aspect, la présente invention propose un mélange réactionnel pour l'amplification de l'acide nucléique à GBS comprenant une formulation aqueuse comme ci-dessus.

[0060] Dans un autre aspect, la présente invention propose une formulation séchée pour l'amplification de l'acide nucléique à GBS comprenant une composition comme ci-dessus et un agent gonflant. Dans certains modes de réalisation, l'agent gonflant est le tréhalose, le raffinose ou une combinaison de ceux-ci. Dans certains modes de réalisation, la formulation séchée comprend en outre au moins un composant choisi parmi un sel inorganique, une enzyme ADN polymérase, une enzyme transcriptase inverse et un oligomère de sonde de détection. Dans certains modes de réalisation comprenant en outre un sel inorganique, le pourcentage en masse du sel inorganique par rapport à la masse de la formulation séchée est inférieur ou égal à 0,249 %. Dans certaines variantes, la formulation séchée est une formulation lyophilisée.

- [0061] Dans un autre aspect, la présente invention propose un mélange réactionnel pour l'amplification de l'acide nucléique à GBS, où le mélange réactionnel est reconstitué avec de l'eau ou un tampon organique à partir d'une formulation séchée comme ci-dessus. Dans certains modes de réalisation, le mélange réactionnel contient un sel inorganique, *par exemple*, le magnésium, le potassium ou le sodium ; dans certaines de ces variations, la concentration du sel inorganique est inférieure ou égale à 4 mM.
- [0062] Dans un autre aspect, la présente invention propose un kit destiné à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon. Dans certains modes de réalisation, le kit comprend une première combinaison d'oligomères d'amplification et/ou une seconde combinaison d'oligomères d'amplification, où
- [0063] (I) la première combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, où les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies parmi
- [0064] (a) (A) SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0065] (B) SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0066] (b) (A) SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0067] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0068] et
- [0069] (II) la seconde combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, où les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies parmi
- [0070] (a) (A') une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0071] (B') SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0072] (b) (A') SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

- [0073] (B') SEQ ID N^o : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0074] (c) (A') SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0075] (B') SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0076] (d) (A') SEQ ID N^o : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0077] (B') SEQ ID N^o : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0078] Dans certains modes de réalisation d'un kit comme ci-dessus, où le kit comprend la première combinaison d'oligomères d'amplification, le kit comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*. Dans certains de ces modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N^o : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N^o : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0079] Dans certains modes de réalisation d'un kit comme ci-dessus, où les séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II) (a), la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) comprend au moins la séquence de SEQ ID N^o : 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certains de ces modes de réalisation, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est présente dans la séquence de SEQ ID N^o : 27, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;

dans certaines de ces variations, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est SEQ ID N° : 12 ou SEQ ID N° : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, où les séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(a), la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Les première (A') et seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* de (II)(a) particulièrement appropriées comprennent

- i. (A') SEQ ID N° : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
(B') SEQ ID N° : 13, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0080] (ii) (A') SEQ ID N° : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0081] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0082] (iii) (A') SEQ ID N° : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0083] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0084] (iv) (A') SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0085] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0086] Dans certains modes de réalisation d'un kit comme ci-dessus, où le kit comprend la première combinaison d'oligomères d'amplification, le kit comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*. Dans certains de ces modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(b) et la séquence d'hybridation cibles de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont des séquences d'hybridation cibles de (II)(d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N°

: 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridations cibles de (II)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 22 ou SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; ou les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II) (c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un extincteur non fluorescent.

[0087] Dans certains modes de réalisation d'un kit destiné à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon comme celui susmentionné, le kit comprend à la fois les première et seconde combinaisons d'oligomères d'amplification.

[0088] Dans un autre aspect, la présente invention fournit un kit destiné à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon, où le kit comprend une combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS. Les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* particulièrement appropriés comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies parmi

[0089] (a) (A) SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

[0090] (B) SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et

[0091] (b) (A) SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

[0092] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.

[0093] Dans certaines variantes, le kit comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon

SIP amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*. Dans certains de ces modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent. Dans certaines variantes d'un kit comme ci-dessus, le kit comprend en outre une seconde combinaison d'oligomères d'amplification capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS.

- [0094] Dans un autre aspect, la présente invention fournit un kit destiné à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon, où le kit comprend une combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS. Les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* particulièrement appropriés comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies parmi
- [0095] (a) (A) une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0096] (B) SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0097] (b) (A) SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0098] (B) SEQ ID N° : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0099] (c) (A) SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

- [0100] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0101] (d) (A) SEQ ID N^o : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0102] (B) SEQ ID N^o : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0103] Dans certains modes de réalisation, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) comprend au moins la séquence de SEQ ID N^o : 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certains de ces modes de réalisation, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est présente dans la séquence de SEQ ID N^o : 27, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; dans certaines de ces variations, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est SEQ ID N^o : 12 ou SEQ ID N^o : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Les première (A') et seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* de (a) particulièrement appropriées comprennent
- i. (A) SEQ ID N^o : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
 - (B) SEQ ID N^o : 13, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0104] (ii) (A) SEQ ID N^o : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0105] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0106] (iii) (A) SEQ ID N^o : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0107] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0108] (iv) (A) SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0109] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0110] Dans certaines variantes, le kit comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de

détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*. Dans certains de ces modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (b) et la séquence d'hybridation cibles de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont des séquences d'hybridation cibles de (d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridations cibles de (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 22 ou SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; ou les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un extincteur non fluorescent. Dans certaines variantes d'un kit comme ci-dessus, le kit comprend en outre une seconde combinaison d'oligomères d'amplification capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS.

- [0111] Dans un autre aspect, la présente invention propose un procédé destiné à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon. Dans certains modes de réalisation, le procédé comprend
- [0112] (1) la mise en contact d'un échantillon suspecté de contenir du GBS présentant une première combinaison d'oligomères d'amplification et/ou une seconde combinaison d'oligomères d'amplification, où
- [0113] (I) la première combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* destinés à amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, où les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies parmi

- [0114] (a) (A) SEQ ID N^o : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0115] (B) SEQ ID N^o : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0116] (b) (A) SEQ ID N^o : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0117] (B) SEQ ID N^o : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0118] et
- [0119] (II) la seconde combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* destinés à amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, où les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprennent, respectivement, des première (A') et seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies parmi
- [0120] (a) (A') une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N^o : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0121] (B') SEQ ID N^o : 13 ou SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0122] (b) (A') SEQ ID N^o : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0123] (B') SEQ ID N^o : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0124] (c) (A') SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0125] (B') SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0126] (d) (A') SEQ ID N^o : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0127] (B') SEQ ID N^o : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0128] (2) la réalisation d'une réaction d'amplification d'acide nucléique in vitro, où tout acide nucléique cible SIP et/ou *CFB* à GBS, s'il est présent dans l'échantillon, est utilisé comme matrice pour générer au moins un amplicon correspondant à la région SIP et/ou *CFB* ; et
- [0129] (3) la détection de la présence ou de l'absence de l'au moins un amplicon, déterminant ainsi la présence ou l'absence de GBS dans l'échantillon.

- [0130] Dans certains modes de réalisation d'un procédé comme ci-dessus, le procédé comprend la mise en contact de l'échantillon avec les première et seconde combinaisons d'oligomères d'amplification. Dans certains de ces modes de réalisation, le procédé est un procédé multiplex comprenant la mise en contact de l'échantillon avec les première et seconde combinaisons d'oligomères d'amplification dans le même mélange réactionnel.
- [0131] Dans certains modes de réalisation d'un procédé comme ci-dessus, où le procédé comprend la mise en contact de l'échantillon avec la première combinaison d'oligomères d'amplification, l'étape de détection comprend la mise en contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*. Dans certains de ces modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I) (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0132] Dans certains modes de réalisation d'un procédé comme ci-dessus, où les séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II) (a), la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) comprend au moins la séquence de SEQ ID N° : 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certains de ces modes de réalisation, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est présente dans la séquence de SEQ ID N° : 27, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; dans certaines de ces variations, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est SEQ ID N° : 12 ou SEQ ID N° : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, où les

séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(a), la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Les première (A') et seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* de (II)(a) particulièrement appropriées comprennent

- [0133] (i) (A') SEQ ID N° : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0134] (B') SEQ ID N° : 13, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0135] (ii) (A') SEQ ID NO : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0136] (B') SEQ ID NO : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0137] (iii) (A') SEQ ID NO : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0138] (B') SEQ ID NO : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0139] (iv) (A') SEQ ID NO : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0140] (B') SEQ ID NO : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0141] Dans certains modes de réalisation d'un procédé comme ci-dessus, où le procédé comprend la mise en contact de l'échantillon avec la seconde combinaison d'oligomères d'amplification, l'étape de détection comprend la mise en contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*. Dans certains de ces modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(b) et la séquence d'hybridation cibles de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont des séquences d'hybridation cibles de (II)(d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; les première et seconde séquences d'hybridation

cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridations cibles de (II)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 22 ou SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; ou les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un extincteur non fluorescent.

- [0142] Dans certaines variantes d'un procédé destiné à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon comme ci-dessus, l'étape de détection est réalisée en temps réel.
- [0143] Dans certaines variantes d'un procédé destiné à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon comme ci-dessus, la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* est une réaction d'amplification par PCR (*par exemple*, une réaction d'amplification par PCR en temps réel).
- [0144] Dans certains modes de réalisation d'un procédé comme ci-dessus, où le procédé comprend la mise en contact de l'échantillon avec les première et seconde combinaisons d'oligomères d'amplification (*par exemple*, un procédé multiplex), l'étape de détection comprend la mise *en* contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec (i) un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP*, comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon amplifiable *SIP* par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*, et (ii) un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*, où chacun des oligomères de sonde de détection spécifiques à *SIP* et à *CFB* comprend un marqueur fluorescent et un extincteur non fluorescent. Dans certains de ces modes de réalisation, la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* est une réaction d'amplification PCR en temps réel.

- [0145] Dans un autre aspect, la présente invention propose un procédé destiné à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon, où le procédé comprend
- [0146] (1) la mise en contact d'un échantillon suspecté de contenir du GBS avec une combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* destinés à amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, où les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies parmi
- [0147] (a) (A) SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0148] (B) SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0149] (b) (A) SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0150] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0151] (2) la réalisation d'une réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro*, où tout acide nucléique cible *SIP* à GBS, s'il est présent dans l'échantillon, est utilisé comme matrice pour générer au moins un amplicon correspondant à la région *SIP* ; et
- [0152] (3) la détection de la présence ou de l'absence de l'amplicon, déterminant ainsi la présence ou l'absence de GBS dans l'échantillon.
- [0153] Dans certaines variantes, l'étape de détection comprend la mise *en* contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP*, comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*. Dans certains de ces modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans

certaines modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent. Dans certaines variantes, l'étape de détection est réalisée en temps réel. Dans certaines variantes, la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* est une réaction d'amplification PCR (*par exemple*, une réaction d'amplification par PCR en temps réel). Dans certains modes de réalisation, le procédé comprend en outre la mise en contact de l'échantillon avec une seconde combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* pour amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, où, à l'étape d'amplification, tout acide nucléique cible *CFB* à GBS, s'il est présent dans l'échantillon, est utilisé comme matrice pour générer un amplicon correspondant à la région cible *CFB*, et où l'étape de détection comprend la détection de la présence ou de l'absence de l'amplicon correspondant à la région cible *CFB*.

- [0154] Dans un autre aspect, la présente invention propose un procédé destiné à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon, où le procédé comprend
- [0155] (1) la mise en contact d'un échantillon suspecté de contenir du GBS avec une combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* destinés à amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, où les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies parmi
- [0156] (a) (A) une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0157] (B) SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0158] (b) (A) SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0159] (B) SEQ ID N° : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0160] (c) (A) SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0161] (B) SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0162] (d) (A) SEQ ID N° : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

- [0163] (B) SEQ ID N^o : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0164] (2) la réalisation d'une réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro*, où tout acide nucléique cible *CFB* à GBS, s'il est présent dans l'échantillon, est utilisé comme matrice pour générer au moins un amplicon correspondant à la régions *CFB* ; et
- [0165] (3) la détection de la présence ou de l'absence de l'amplicon, déterminant ainsi la présence ou l'absence de GBS dans l'échantillon.
- [0166] Dans certains modes de réalisation, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) comprend au moins la séquence de SEQ ID N^o : 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certains de ces modes de réalisation, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est présente dans la séquence de SEQ ID N^o : 27, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; dans certaines de ces variations, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est SEQ ID N^o : 12 ou SEQ ID N^o : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Les première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* de (a) particulièrement appropriées comprennent
- [0167] (i) (A) SEQ ID N^o : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0168] (B) SEQ ID N^o : 13, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0169] (ii) (A) SEQ ID N^o : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0170] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0171] (iii) (A) SEQ ID N^o : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0172] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0173] (iv) (A) SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0174] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0175] Dans certaines variantes, l'étape de détection comprend la mise en contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec une séquence d'hybridation

cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*. Dans certains de ces modes de réalisation, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (b) et la séquence d'hybridation cibles de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont des séquences d'hybridation cibles de (d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridations cibles de (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 22 ou SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; ou les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un extincteur non fluorescent. Dans certaines variantes, l'étape de détection est réalisée en temps réel. Dans certaines variantes, la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* est une réaction d'amplification PCR (*par exemple*, une réaction d'amplification par PCR en temps réel). Dans certains modes de réalisation, le procédé comprend en outre la mise en contact de l'échantillon avec une seconde combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* pour amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, où, à l'étape d'amplification, tout acide nucléique cible *SIP* à GBS, s'il est présent dans l'échantillon, est utilisé comme matrice pour générer un amplicon correspondant à la région cible *SIP*, et où l'étape de détection comprend la détection de la présence ou de l'absence de l'amplicon correspondant à la région cible *SIP*.

[0176] Dans certains modes de réalisation d'un procédé destiné à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon, le procédé détermine la présence ou l'absence

d'un des sérotypes à GBS Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VI, VII., VIII et IX. Dans certains de ces modes de réalisation, le procédé détermine en outre la présence ou l'absence d'une souche non hémolytique de GBS.

- [0177] Dans un autre aspect, la présente invention propose un oligomère de sonde de détection. Dans certains modes de réalisation, l'oligomère de sonde de détection est un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par une première combinaison d'oligomères d'amplification qui comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprenant respectivement une première (A) et une seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de
- [0178] (a) (A) SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0179] (B) SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0180] (b) (A) SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0181] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0182] Dans certains modes de réalisation d'un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comme ci-dessus, la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est choisie parmi (a) SEQ ID N° : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et (b) SEQ ID N° : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0183] Dans d'autres modes de réalisation, l'oligomère de sonde de détection est un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à

une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par une seconde combinaison d'oligomères d'amplification qui comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprenant respectivement une première (A') et une seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies parmi

- [0184] (a) (A') une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0185] (B') SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0186] (b) (A') SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0187] (B') SEQ ID N° : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0188] (c) (A') SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0189] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0190] (d) (A') SEQ ID N° : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0191] (B') SEQ ID N° : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0192] Dans certains modes de réalisation d'un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comme ci-dessus, la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est choisie parmi (a) SEQ ID N° : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, (b) SEQ ID N° : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, (c) SEQ ID N° : 22, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et (d) SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans certaines variantes, l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable tel que, par exemple, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent. Dans certains modes de réalisation comprenant un oligomère de sonde marqué de manière détectable, le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un extincteur non fluorescent.

- [0193] Dans un autre aspect, la présente invention propose une composition comprenant un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* et un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comme ci-dessus.
- [0194] Dans un autre aspect, la présente invention propose une formulation aqueuse destinée à la détection d'acide nucléique à GBS comprenant (1) un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* et/ou un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comme ci-dessus et (2) un tampon organique. Dans certains modes de réalisation, la formulation aqueuse comprend en outre au moins un composant choisi parmi un tensioactif (*par exemple*, le polyéthylène glycol mono [4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl) phényl] éther, le polysorbate 20, ou une combinaison de ceux-ci), une enzyme ADN polymérase, une enzyme transcriptase inverse, au moins un oligomère d'amplification et un agent gonflant (*par exemple*, le tréhalose, le raffinose ou une combinaison de ceux-ci). Dans certaines variantes comprenant un tensioactif, le tensioactif est un tensioactif non linéaire, *par exemple*, le polysorbate 20. Dans certains modes de réalisation, la formulation aqueuse contient un sel inorganique à une concentration inférieure ou égale à 4 mM. Selon un aspect associé, la présente invention propose un mélange réactionnel pour la détection de GBS comprenant une formulation aqueuse comme ci-dessus.
- [0195] Dans un autre aspect, la présente invention propose une formulation séchée destinée à la détection d'acide nucléique à GBS comprenant (1) un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* et/ou un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comme ci-dessus et (2) un agent gonflant. Dans certains modes de réalisation, l'agent gonflant est le tréhalose, le raffinose ou une combinaison de ceux-ci. Dans certains modes de réalisation, la formulation séchée comprend en outre au moins un composant choisi parmi un sel inorganique, une enzyme ADN polymérase, une enzyme transcriptase inverse, au moins un oligomère d'amplification et un tensioactif (*par exemple*, le polyéthylène glycol mono [4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl) phényl] éther, le polysorbate 20 ou une combinaison de ceux-ci). Dans certains modes de réalisation comprenant en outre un sel inorganique, le pourcentage en masse du sel inorganique par rapport à la masse de la formulation séchée est inférieur ou égal à 0,249 %. Dans certaines variantes comprenant un tensioactif, le tensioactif est un tensioactif non linéaire, *par exemple*, le polysorbate 20. Dans certaines variantes, la formulation séchée est une formulation lyophilisée. Selon un aspect associé, la présente invention propose un mélange réactionnel pour la détection de GBS, où le mélange réactionnel est reconstitué avec de l'eau et un tampon organique à partir d'une formulation séchée comme ci-dessus. Dans certains modes de réalisation, le mélange réactionnel contient un sel inorganique, *par exemple*, le magnésium, le potassium ou le sodium ; dans

certaines de ces variations, la concentration du sel inorganique est inférieure ou égale à 4 mM.

[0196] Ces aspects et d'autres de l'invention deviendront évidents en se référant à la description détaillée suivante de l'invention et aux dessins annexés.

[0197] DÉFINITIONS

[0198] Sauf définition contraire, tous les termes techniques et scientifiques utilisés dans la présente invention ont la même signification que celle couramment comprise par un spécialiste ordinaire du domaine auquel se réfèrent les procédés et les compositions décrits. Les définitions générales peuvent être trouvées dans des ouvrages techniques relatifs au domaine de la biologie moléculaire, *par exemple*, Dictionary of Microbiology and Molecular Biology, 2^e édition. (Singleton *et al.*, 1994, John Wiley & Sons, New York, NY) ou The Harper Collins Dictionary of Biology (Hale & Marham, 1991, Harper Perennial, New York, NY). Tels qu'utilisés dans la présente invention, les termes et expressions suivants ont la signification qui leur est attribuée, sauf indication contraire.

[0199] Les termes « un », « une », « le », « l' » « la » et « les » comprennent des référents pluriels, à moins que le contexte n'indique clairement le contraire. Par exemple, « un acide nucléique », tel qu'utilisé dans la présente invention, est censé représenter un ou plusieurs acides nucléiques. Ainsi, les termes « un » ou « une », « un ou plusieurs » et « au moins un » peuvent être utilisés de manière interchangeable dans la présente invention.

[0200] On appréciera que le terme « environ » soit sous-entendu devant les données de températures, de concentrations, de temps, etc. dans la présente invention, de sorte que les écarts dans le cadre des enseignements de la présente invention soient légers et négligeables. En général, le terme « environ » indique une variation négligeable dans une quantité d'un composant d'une composition n'ayant pas d'effet significatif sur l'efficacité ou la stabilité de la composition. Toutes les plages doivent être interprétées comme englobant les points d'extrémité en l'absence d'exclusions expresses telles que « ne comprenant pas les points d'extrémité », ainsi, par exemple, « entre 10 et 15 » comprends les valeurs 10 et 15. De plus, l'utilisation de « comprennent », « comprend », « comprenant », « contiennent », « contient », « contenant », « comprennent », « comprend » et « comprenant » n'est pas destinée à être restrictive. Il faut comprendre que la description générale ci-dessus et la description détaillée sont ne sont que des exemples et des explications et ne visent pas à restreindre les enseignements. Si tout matériel incorporé par référence est incompatible avec le contenu exprès de la présente invention, le contenu exprès prévaudra.

[0201] Sauf indication spécifique, dans la description, les modes de réalisation dans toute description qui cite « comprenant », divers composants sont également considérés

comme « constitué par » ou « constitué essentiellement par » les composants cités ; les modes de réalisation dans la description qui citent « constitué par » divers composants sont également considérés comme « comprenant » ou « constitué essentiellement par » les composants cités ; et les modes de réalisation dans la description qui citent « constitué essentiellement par » divers composants sont également considérés comme « constitué par » les composants cités ou « comprenant » ceux-ci (cette interchangeabilité ne s'applique pas à l'utilisation de ces termes dans les revendications). « Constitué essentiellement par » signifie que le ou les composant(s), composition(s) ou étape(s) supplémentaire(s) qui ne changent pas matériellement les caractéristiques fondamentales et nouvelles des compositions et procédés décrits dans la présente invention peuvent être compris dans ces compositions ou procédés. Ces caractéristiques comprennent la capacité à détecter une séquence d'acides nucléiques à streptocoque de groupe B (GBS) présente dans un échantillon présentant une spécificité qui distingue l'acide nucléique à GBS provenant d'autres agents pathogènes connus, éventuellement à une sensibilité qui permet de détecter la bactérie présente dans un échantillon à une concentration d'environ 100 UFC/ml et, éventuellement, dans un délai d'environ 60 minutes et/ou dans environ 40 cycles à partir du début d'une réaction d'amplification lorsqu'une réaction d'amplification cyclée est utilisée.

[0202] « L'échantillon » comprend tout échantillon pouvant contenir du « GBS » ou des composants de celui-ci, tels que des acides nucléiques ou des fragments d'acides nucléiques. Les échantillons comprennent des « échantillons biologiques », qui comprennent tout tissu ou matériel dérivé d'un être humain vivant ou mort et pouvant contenir du GBS ou de l'acide nucléique cible dérivé de celui-ci, comprenant, *par exemple*, des échantillons d'écouvillonnage vaginal, des échantillons de brosse cervicale, des tissus ou exsudats respiratoires tels que la bronchoscopie, le lavage broncho-alvéolaire (LBA) ou la biopsie pulmonaire, les expectorations, la salive, le sang périphérique, le plasma, le sérum, les ganglions lymphatiques, les tissus gastro-intestinaux, les matières fécales, l'urine, le sperme ou d'autres fluides ou matières corporels. L'échantillon biologique peut être traité pour interrompre physiquement ou mécaniquement la structure tissulaire ou cellulaire, libérant ainsi des composants intracellulaires dans une solution pouvant contenir en outre des enzymes, des tampons, des sels, des détergents et analogues, qui sont utilisés pour la préparation d'un échantillon biologique d'analyse à l'aide de procédés standard. De plus, les échantillons peuvent comprendre des échantillons traités, tels que ceux obtenus en passant des échantillons sur un dispositif de filtration ou à travers celui-ci, ou après une centrifugation, ou par adhérence sur un milieu, une matrice ou un support.

[0203] « L'acide nucléique » et le « polynucléotide » désignent un composé multimère comprenant des nucléosides ou des analogues de nucléosides qui possèdent des bases

hétérocycliques azotées ou des analogues de bases liés entre eux pour former un polynucléotide, comprenant un ARN, un ADN classique, un ARN-ADN mixte et des polymères qui en sont des analogues. Le « squelette » d'acide nucléique peut être constitué d'une variété de liaisons, dont une ou plusieurs parmi les liaisons sucre-phosphodiester, les liaisons peptide-acide nucléique (« acides nucléiques peptidiques » ou PNA ; publication PCT N° WO 95/32305), les liaisons phosphorothioates, les liaisons méthylphosphonates ou des combinaisons de celles-ci. Les fractions de sucre d'un acide nucléique peuvent être du ribose, du désoxyribose ou des composés similaires comportant des substitutions, *par exemple* des substitutions de 2' méthoxy ou de 2' halogénures. Les bases azotées peuvent être des bases classiques (A, G, C, T, U), des analogues de celles-ci (*par exemple*, l'inosine ou autres ; voir *Nucleic Acids* 5-36, Adams *et al.*, ed., 11^e édition, 1992), des dérivés de purines ou de pyrimidines (*par exemple*, la N⁴-méthyl désoxyguanosine, les déaza- ou aza-purines, les déaza- ou aza-pyrimidines, les bases pyrimidiques comportant des groupes substituants en position 5 ou 6, les bases puriques comportant un substituant en positions 2, 6 ou 8, la 2-amino-6-méthylaminopurine, la O⁶-méthylguanine, les 4-thio-pyrimidines, les 4-amino-pyrimidines, les 4-diméthylhydrazine-pyrimidines et les O⁴-alkyl-pyrimidines ; brevet américain n° 5 378 825 et publication PCT N° WO 93/13121). Les acides nucléiques peuvent comprendre au moins un résidu « abasique », où le squelette ne comprend pas de base azotée pour la ou les positions du polymère (brevet américain n° 5 585 481). Un acide nucléique peut comprendre uniquement des sucres, des bases et des liaisons d'ARN ou d'ADN classiques, ou peut comprendre à la fois des composants classiques et des substitutions (*par exemple*, des bases classiques comportant des liaisons 2'-méthoxy, ou des polymères contenant à la fois des bases classiques et au moins un analogue de base). L'acide nucléique comprend « l'acide nucléique bloqué » (LNA), un analogue contenant au moins un monomère nucléotidique de LNA comportant une unité de furanose bicyclique bloquée dans un ARN imitant la conformation du sucre, qui améliore l'affinité d'hybridation vers des séquences d'ARN et d'ADN complémentaires (Vester et Wengel, 2004). *Biochemistry* 43 (42) : 13233-41). Les modes de réalisation d'oligomères susceptibles d'affecter la stabilité d'un complexe d'hybridation comprennent les oligomères de PNA, les oligomères comprenant l'ARN substitué par le 2'-méthoxy ou le 2'-fluoro, ou les oligomères qui affectent la charge globale, la densité de charge ou les associations stériques d'un complexe d'hybridation, comprenant les oligomères qui contiennent des liaisons chargées (*par exemple* les phosphorothioates) ou des groupes neutres (*par exemple* les méthylphosphonates). Les 5-méthylcytosines peuvent être utilisées conjointement avec l'un quelconque des squelettes/sucres/liaisons précédents,

comprenant les squelettes d'ARN ou d'ADN (ou des mélanges de ceux-ci), sauf indication contraire. Il est entendu que s'agissant des plages de la longueur d'un oligonucléotide, d'un amplicon ou d'un autre acide nucléique, la plage comprend tous les nombres entiers (*par exemple*, une longueur de 19 à 25 nucléotides contigus comprend 19, 20, 21, 22, 23, 24 et 25).

[0204] Un « nucléotide » tel qu'utilisé dans la présente invention est une sous-unité d'un acide nucléique constitué d'un groupe phosphate, d'un sucre à 5 carbones et d'une base azotée (également appelée dans la présente invention « nucléobase »). Le sucre à 5 carbones que l'on trouve dans l'ARN est le ribose. Dans l'ADN, le sucre à 5 carbones est le 2'-désoxyribose. Le terme comprend également des analogues des sous-unités, comme un groupe méthoxy en position 2' du ribose (également appelé dans la présente invention « 2'-O-Me » ou « 2'-méthoxy »).

[0205] Par « équivalents d'ARN et d'ADN », on entend des molécules d'ARN et d'ADN présentant essentiellement les mêmes propriétés d'hybridation de paires de bases complémentaires. Les équivalents d'ARN et d'ADN comportent des fragments de sucre différents (*c'est-à-dire* Ribose contre désoxyribose) et peuvent différer par la présence d'uracile dans l'ARN et de thymine dans l'ADN. Les différences entre les ARN et ADN équivalents ne contribuent pas aux différences d'homologie car les équivalents présentent le même degré de complémentarité qu'une séquence particulière. Par « chimère d'ADN/ARN », on entend un acide nucléique comprenant à la fois des nucléotides d'ADN et d'ARN. À moins que le contexte ne dicte clairement le contraire, la référence à un acide nucléique à GBS comprend les équivalents d'ARN et d'ADN à GBS et des chimères ADN/ARN de celui-ci.

[0206] Tel qu'utilisé dans la présente invention, un « acide nucléique cible » est un acide nucléique comprenant une séquence cible à amplifier. Les acides nucléiques cibles peuvent être un ADN ou un ARN et peuvent être simple brin ou double brin. L'acide nucléique cible peut comprendre d'autres séquences que la séquence cible, qui ne peuvent ne pas être amplifiées.

[0207] Le terme « séquence cible », tel qu'utilisé dans la présente invention, désigne la séquence nucléotidique particulière de l'acide nucléique cible qui doit être amplifié et/ou détecté. La « séquence cible » comprend les séquences de complexation auxquelles des oligonucléotides (*par exemple*, les oligonucléotides d'amorçage et/ou les oligonucléotides promoteurs) se complexent au cours de processus d'amplification (*par exemple*, PCR, TMA). Lorsque l'acide nucléique cible est à l'origine simple brin, le terme « séquence cible » désignera également la séquence complémentaire de la « séquence cible » telle que présente dans l'acide nucléique cible. Lorsque l'acide nucléique cible est à l'origine double brin, le terme « séquence cible » désigne à la fois les brins sens (+) et antisens (-).

- [0208] La « séquence d'hybridation cible » ou la « séquence spécifique cible » est utilisée dans la présente invention pour désigner la partie d'un oligomère qui est configuré pour s'hybrider à une séquence d'acides nucléiques cible. De préférence, les séquences d'hybridation cibles sont configurées pour s'hybrider spécifiquement à une séquence d'acides nucléiques cible. Les séquences d'hybridation cibles peuvent être complémentaires à 100 % à la partie de la séquence cible avec laquelle elles sont configurées pour s'hybrider, mais pas nécessairement. Les séquences d'hybridation cibles peuvent également comprendre des résidus de nucléotides insérés, supprimés et/ou substitués par rapport à une séquence cible. Une complémentarité inférieure à 100 % d'une séquence d'hybridation cible à une séquence cible peut survenir, par exemple, lorsque l'acide nucléique cible est constitué d'une pluralité de souches au sein d'une espèce, comme ce serait le cas pour un oligomère configuré pour s'hybrider à divers sérotypes à GBS. Il est entendu qu'il existe d'autres raisons pour configurer une séquence d'hybridation cible pour qu'elle présente une complémentarité inférieure à 100 % à un acide nucléique cible.
- [0209] Le terme « cibler une séquence », tel qu'il est utilisé dans la présente invention en référence à une région d'acide nucléique à GBS, se réfère à un processus par lequel un oligonucléotide s'hybride à une séquence cible d'une manière qui permet l'amplification et la détection comme décrit dans la présente invention. Dans un mode de réalisation préféré, l'oligonucléotide est complémentaire à la séquence d'acides nucléiques à GBS ciblée et ne contient pas de mésappariements. Dans un autre mode de réalisation préféré, l'oligonucléotide est complémentaire mais contient 1, 2, 3, 4 ou 5 mésappariements avec la séquence d'acides nucléiques à GBS ciblée. De préférence, l'oligomère s'hybride spécifiquement à la séquence cible.
- [0210] Le terme « configuré pour » désigne un agencement réel de la configuration de séquences polynucléotidiques d'une séquence d'hybridation cible oligonucléotidique référencée. Par exemple, les oligomères d'amplification configurés pour générer un amplicon spécifié à partir d'une séquence cible comportent des séquences polynucléotidiques qui s'hybrident à la séquence cible et peuvent être utilisées dans une réaction d'amplification pour générer l'amplicon. Également à titre d'exemple, les oligonucléotides qui sont configurés pour s'hybrider spécifiquement à une séquence cible comportent une séquence polynucléotidique qui s'hybride spécifiquement à la séquence référencée dans des conditions d'hybridation rigoureuses.
- [0211] Le terme « configuré pour s'hybrider spécifiquement » tel qu'utilisé dans la présente invention signifie que la région s'hybride à la région d'hybridation cible d'un oligonucléotide d'amplification, d'une sonde de détection, ou un autre oligonucléotide est conçu pour comporter une séquence polynucléotidique qui pourrait cibler une séquence de la région cible à GBS référencée. Un tel oligonucléotide ne se limite pas à

cette séquence de ciblage seulement, mais est plutôt utile comme composition, dans un kit, ou dans un procédé de ciblage d'un acide nucléique cible à GBS. L'oligonucléotide est conçu pour fonctionner comme un composant d'un test d'amplification et de détection du GBS à partir d'un échantillon, et est donc conçu pour cibler le GBS en présence d'autres acides nucléiques que l'on trouve couramment dans les échantillons de test. « S'hybride spécifiquement à » ne signifie pas exclusivement s'hybrider à, car un faible niveau d'hybridation aux acides nucléiques non cibles peut se produire, comme cela s'entend dans le domaine. Au lieu de cela, « s'hybrider spécifiquement à » signifie que l'oligonucléotide est configuré pour fonctionner dans un test afin d'hybrider principalement la cible, de sorte qu'une détection précise de l'acide nucléique cible dans un échantillon puisse être déterminée.

[0212] Le terme « région », tel qu'utilisé dans la présente invention, désigne une partie d'un acide nucléique, ladite partie étant plus petite que l'acide nucléique entier. Par exemple, lorsque l'acide nucléique en référence est un promoteur-amorce oligonucléotidique, le terme « région » peut être utilisé pour désigner la partie plus petite du promoteur. De même, et à titre d'exemple uniquement, lorsque l'acide nucléique est un acide nucléique cible à GBS, le terme « région » peut être utilisé pour désigner une zone plus petite de l'acide nucléique, la zone plus petite étant ciblée par au moins un oligonucléotide de la présente invention. Comme autre exemple non limitatif, lorsque l'acide nucléique en référence est un amplicon, le terme région peut être utilisé pour désigner la séquence nucléotidique plus petite identifiée pour l'hybridation par la séquence d'hybridation cible d'une sonde.

[0213] « L'oligomère », « l'oligonucléotide » ou « l'oligo » désigne un acide nucléique généralement inférieur à 1 000 nucléotides (nt), comprenant ceux dont la plage de taille a une limite inférieure d'environ 2 à 5 nt et une limite supérieure d'environ 500 à 900 nt. Certains modes de réalisation particuliers sont des oligomères dont la plage de taille a une limite inférieure d'environ 5 à 15, 16, 17, 18, 19 ou 20 nt et une limite supérieure d'environ 50 à 600 nt, et d'autres modes de réalisation particuliers sont dans une plage de taille ayant une limite inférieure d'environ 10 à 20 nt et une limite supérieure d'environ 22 à 100 nt. Les oligomères peuvent être purifiés à partir de sources naturelles, mais peuvent être synthétisés à l'aide d'un procédé enzymatique ou chimique bien connu quelconque. Le terme oligonucléotide ne désigne aucune fonction particulière du réactif ; il est plutôt utilisé de manière générique pour couvrir tous les réactifs décrits dans la présente invention. Un oligonucléotide peut remplir diverses fonctions. Par exemple, il peut servir d'amorce s'il est spécifique et capable de s'hybrider à un brin complémentaire et peut en outre être étendu en présence d'un acide nucléique polymérase ; il peut fonctionner comme une amorce et fournir un promoteur s'il contient une séquence reconnue par une ARN polymérase et permet

la transcription (*par exemple*, une amorce T7) ; et il peut fonctionner pour détecter un acide nucléique cible s'il est capable de s'hybrider à l'acide nucléique cible, ou à un amplicon de celui-ci, et fournit en outre une fraction détectable (*par exemple*, un composé d'ester d'acridinium). Les oligomères peuvent être désignés par un nom fonctionnel (*par exemple*, une sonde de capture, une amorce ou un promoteur-amorce), mais le spécialiste du domaine comprendra que ces termes renvoient aux oligomères.

[0214] Tel qu'utilisé dans la présente invention, un oligonucléotide « correspondant sensiblement à » une séquence d'acides nucléiques de référence spécifiée signifie que l'oligonucléotide est suffisamment similaire à la séquence d'acides nucléiques de référence pour que l'oligonucléotide présente des propriétés d'hybridation similaires à la séquence d'acides nucléiques de référence en ce qu'il s'hybriderait à la même séquence d'acides nucléiques cible dans des conditions d'hybridation rigoureuses. Le spécialiste du domaine comprendra que « des oligonucléotides sensiblement correspondants » peuvent varier d'une séquence de référence et s'hybrider à la même séquence d'acides nucléiques cible. Il est également entendu qu'un premier acide nucléique correspondant à un second acide nucléique comprend l'équivalent d'ARN ou d'ADN de celui-ci, ainsi que des chimères d'ADN/ARN de celui-ci, et comprend les compléments de celui-ci, à moins que le contexte n'indique clairement le contraire. Cette variation de l'acide nucléique peut être exprimée en pourcentage de bases identiques dans la séquence ou en pourcentage de bases parfaitement complémentaires entre la sonde ou l'amorce et sa séquence cible ; ainsi, dans certains modes de réalisation, un oligonucléotide correspond « sensiblement » à une séquence d'acides nucléiques de référence si ces pourcentages d'identité ou de complémentarité de base sont compris entre 100 et environ 80 %, de préférence entre 100 et environ 85 %, ou plus préférablement entre 100 et environ 90 % ou entre 100 et environ 95 %. Cette variation de l'acide nucléique peut également être indiquée en termes du nombre de substitutions dans une séquence d'acides nucléiques par rapport à une séquence de référence, ou du nombre de mésappariements dans une séquence par rapport à une séquence cible ; ainsi, dans certains modes de réalisation, un oligonucléotide « correspond sensiblement » à une séquence d'acides nucléiques de référence si ce nombre de substitutions ou de mésappariements de nucléobases va jusqu'à quatre, de préférence jusqu'à trois, ou plus préférablement jusqu'à deux ou jusqu'à au moins une substitution ou au moins un mésappariement (*c'est-à-dire* de zéro à quatre, de préférence de zéro à trois, ou plus préférablement de zéro à deux ou de zéro à un, inclus). De même, une région d'un acide nucléique ou d'un acide nucléique amplifié peut être considérée dans la présente invention comme correspondant à une séquence d'acides nucléiques de référence. Le spécialiste du domaine comprendra les diverses modifications des conditions d'hybridation qui pourraient être nécessaires à différents

pourcentages de complémentarité pour permettre l'hybridation à une séquence cible spécifique sans provoquer un niveau inacceptable d'hybridation non spécifique.

- [0215] Telle qu'utilisée dans la présente invention, l'expression « ou son complément, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci », en référence à une séquence d'ADN, comprend (en plus de la séquence d'ADN référencée) le complément de la séquence d'ADN, un équivalent d'ARN de la séquence d'ADN référencée, un équivalent d'ARN du complément de la séquence d'ADN référencée, une chimère d'ADN/ARN de la séquence d'ADN référencée et une chimère d'ADN/ARN du complément de la séquence d'ADN référencée. De même, l'expression « ou son complément, ou un équivalent d'ADN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci », en référence à une séquence d'ARN, comprend (en plus de la séquence d'ARN référencée) le complément de la séquence d'ARN, un équivalent d'ADN de la séquence d'ARN référencée, un équivalent d'ADN du complément de la séquence d'ARN référencée, une chimère d'ADN/ARN de la séquence d'ARN référencée, et une chimère d'ADN/ARN du complément de la séquence d'ARN référencée.
- [0216] Un « oligonucléotide d'amplification » ou un « oligomère d'amplification » est un oligonucléotide qui s'hybride à un acide nucléique cible, ou son complément, et participe à une réaction d'amplification d'acide nucléique, *par exemple*, en servant d'amorce ou et d'amorce promotrice. Les oligomères d'amplification particuliers contiennent au moins environ 10 bases contiguës, et éventuellement au moins 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 ou 20 bases contiguës, qui sont complémentaires à une région de la séquence d'acides nucléiques cible ou de son brin complémentaire. Les bases contiguës peuvent être d'au moins environ 80 %, d'au moins environ 90 % ou complètement complémentaires à la séquence cible à laquelle l'oligomère d'amplification se lie. Le spécialiste du domaine comprendra que les plages citées comprennent tous les nombres entiers et rationnels compris dans la plage (*par exemple*, 92 % ou 98,377 %). Les oligomères d'amplification particuliers ont une longueur d'environ 10 à environ 60 bases et peuvent éventuellement comprendre des nucléotides modifiés.
- [0217] Une « amorce » est un oligomère qui s'hybride à un acide nucléique de matrice et possède une extrémité 3' qui est étendue par polymérisation. Une amorce peut être éventuellement modifiée, *par exemple* en incluant une région 5' non complémentaire de la séquence cible. Une telle modification peut comprendre des additions fonctionnelles, telles que des étiquettes, des promoteurs ou d'autres séquences sans cible spécifique, utilisées ou utiles pour manipuler ou amplifier l'amorce ou l'oligonucléotide cible.
- [0218] Dans le contexte de l'amplification médiée par la transcription, une amorce modifiée par une séquence promotrice 5' est appelée dans la présente invention « promoteur-

amorce ». Le spécialiste de la biologie moléculaire ou de la biochimie comprendra qu'un oligomère pouvant fonctionner comme une amorce peut être modifié pour comprendre une séquence promotrice 5', puis fonctionner comme un promoteur-amorce, et de même, tout promoteur-amorce peut servir d'amorce avec ou sans sa séquence promotrice 5'. Un promoteur-amorce modifié pour incorporer une extrémité bloquée 3' est appelée dans la présente invention « fournisseur de promoteur », qui est capable de s'hybrider à un acide nucléique cible et de fournir une séquence promotrice en amont qui sert à initier la transcription, mais ne fournit pas d'amorce pour l'extension d'oligo.

[0219] La « séquence sans cible spécifique » ou la « séquence d'hybridation sans cible », telle qu'utilisée dans la présente invention, se réfère à une région d'une séquence d'oligomères, ladite région ne s'hybridant pas de manière stable à une séquence cible dans des conditions d'hybridation standard. Les oligomères comportant des séquences sans cible spécifique comprennent, sans toutefois s'y limiter, les promoteurs-amorces et les balises moléculaires.

[0220] « L'amplification d'acide nucléique » renvoie à toute procédure *in vitro* qui produit des copies multiples d'une séquence d'acides nucléiques cible, ou de sa séquence complémentaire, ou des fragments de celle-ci (*c'est-à-dire* une séquence amplifiée contenant moins que l'acide nucléique cible complet). Des exemples de procédures d'amplification d'acide nucléique comprennent des méthodes associées à la transcription, telles que l'amplification médiée par la transcription (TMA), l'amplification basée sur une séquence d'acides nucléiques (NASBA) et autres (*par exemple*, brevets américains n° 5 399 491, 5 554 516, 5 437 990, 5 130 238, 4 868 105, et 5 124 246), l'amplification à médiation par la réplique (*par exemple*, brevet américain n° 4 786 600), la réaction en chaîne de polymérase (PCR) (*par exemple*, brevets américains n° 4 683 195, 4 683 202 et 4 800 159), la réaction en chaîne de ligase (LCR) (*par exemple*, brevet EP n° 0320308), l'amplification dépendante de l'hélicase (*par exemple*, brevet américain n° 7 282 328) et l'amplification par déplacement de brin (SDA) (*par exemple*, brevet américain n° 5 422 252). L'amplification peut être linéaire ou exponentielle. L'amplification médiée par la réplique utilise des molécules d'ARN à auto-réplication et une réplique telle que la QB-réplique. L'amplification par PCR utilise l'ADN polymérase, des amorces et des étapes de cyclage thermique pour synthétiser des copies multiples des deux brins complémentaires d'ADN ou d'ADNc. L'amplification par LCR utilise au moins quatre oligonucléotides distincts pour amplifier une cible et son brin complémentaire à l'aide de plusieurs cycles d'hybridation, de ligature et de dénaturation. L'amplification dépendante de l'hélicase utilise une hélicase pour séparer les deux brins d'un duplex d'ADN générant des matrices simple brin, suivie de l'hybridation d'amorces spécifiques à la séquence qui

s'hybrident aux matrices et d'une extension par l'ADN polymérase pour amplifier la séquence cible. La SDA utilise une amorce contenant un site de reconnaissance pour une endonucléase de restriction qui entaille un brin d'un duplex d'ADN hémimodifié qui comprend la séquence cible, suivie d'une amplification dans une série d'étapes d'extension d'amorce et de déplacement de brin. Les modes de réalisation particuliers utilisent la PCR ou la TMA, mais il sera évident pour le spécialiste du domaine que les oligomères décrits dans la présente invention peuvent être facilement utilisés comme amorces dans d'autres procédés d'amplification.

[0221] L'amplification associée à la transcription utilise une ADN polymérase, une ARN polymérase, des désoxyribonucléosides triphosphates, des ribonucléosides triphosphates, un oligonucléotide contenant un promoteur, et peut éventuellement comprendre d'autres oligonucléotides, pour produire in fine de multiples transcrits d'ARN à partir d'un modèle d'acide nucléique (décrit en détail dans, *par exemple*, les brevets américains n° 5 399 491 et 5 554 516 de Kacian *et al.*, le brevet américain n° 5 437 990 de Burg *et al* ; les publications PCT n° WO 88/01302 et WO 88/10315 (Gingeras *et al.*) ; le brevet américain N° 5 130 238 de Malek *et al.*, les brevets américains n° 4 868 105 et 5 124 246 de Urdea *et al.*, la publication PCT n° WO 94/03472 (McDonough *et al.*) ; et la publication PCT n° WO 95/03430 (Ryder *et al.*)). Les procédés qui utilisent la TMA sont décrits en détail précédemment (*par exemple*, les brevets américains n° 5 399 491 et 5 554 516).

[0222] Dans les procédés d'amplification cyclique qui détectent les amplicons en temps réel, le terme « cycle de seuil » (Ct) est une mesure du temps d'émergence d'un signal associé à une amplification de cible et correspond généralement à 10 x écart type du signal de rapporteur normalisé. Une fois qu'une amplification atteint le « cycle seuil », on considère généralement qu'il existe un produit d'amplification positif d'une séquence à laquelle la sonde se lie. L'identité du produit d'amplification peut ensuite être déterminée par des procédés connus du spécialiste du domaine, tels que l'électrophorèse sur gel, le séquençage d'acides nucléiques et d'autres procédures analytiques similaires.

[0223] Par « amplicon » ou « produit d'amplification », on entend une molécule d'acide nucléique générée dans une réaction d'amplification d'acide nucléique et qui est dérivée d'un acide nucléique cible. Un amplicon ou un produit d'amplification contient une séquence d'acides nucléiques cible qui peut être du même sens ou d'un sens opposé à l'acide nucléique cible.

[0224] Tel qu'utilisé dans la présente invention, le terme « unité de fluorescence relative » (« RFU ») est une unité de mesure d'intensité de fluorescence. La RFU varie en fonction des caractéristiques des moyens de détection utilisés pour la mesure et peut

être utilisée comme mesure pour comparer les intensités relatives des échantillons et des contrôles.

[0225] « L'oligomère de sonde de détection », « la sonde de détection » ou « la sonde » désigne un oligomère qui s'hybride spécifiquement à une séquence cible, comprenant une séquence amplifiée, dans des conditions qui favorisent l'hybridation d'acide nucléique, pour la détection de l'acide nucléique cible. La détection peut être directe (par *exemple*, la sonde hybridée directement à la cible) ou indirecte (par *exemple*, une sonde est hybridée à une structure intermédiaire qui relie la sonde à la cible). Les sondes de détection peuvent être de l'ADN, de l'ARN, des analogues de ceux-ci ou des combinaisons de ceux-ci (par *exemple* des chimères d'ADN/ARN), et elles peuvent être marquées ou non. Les sondes de détection peuvent en outre comprendre d'autres liaisons dorsales telles que, par *exemple*, des liaisons 2'-O-méthyle. La séquence cible d'une sonde renvoie généralement à la séquence spécifique au sein d'une séquence plus grande que la sonde hybride spécifiquement. Une sonde de détection peut comprendre au moins une séquence spécifique à une cible et au moins une séquence sans cible spécifique. De telles séquences non spécifiques à une cible peuvent comprendre des séquences qui conféreront une structure secondaire ou tertiaire souhaitée, telle qu'une structure en épingle à cheveux, qui peut être utilisée pour faciliter la détection et/ou l'amplification (voir, par *exemple*, les brevets américains n° 5 118 801, 5 312 728, 6 835 542 et 6 849 412). Les sondes d'une séquence définie peuvent être produites par des techniques connues du spécialiste du domaine, par exemple par synthèse chimique, et par expression *in vitro* ou *in vivo* à partir de molécules d'acides nucléiques recombinantes.

[0226] Par « hybridation » ou « hybrider », on entend la capacité de deux brins d'acide nucléique complètement ou partiellement complémentaires à se réunir dans des conditions de test d'hybridation spécifiées dans une orientation parallèle ou antiparallèle pour former une structure stable comportant une région double brin. Les deux brins constitutifs de cette structure double brin, parfois appelée hybride, sont maintenus ensemble par des liaisons hydrogène. Bien que ces liaisons hydrogènes se forment le plus souvent entre des nucléotides contenant les bases adénine et thymine ou de l'uracile (A et T ou U) ou de la cytosine et de la guanine (C et G) sur des brins d'acide nucléique simples, un appariement de bases peut également se former entre des bases qui n'appartiennent pas à ces paires « canoniques ». L'appariement de bases non canoniques est bien connu dans le domaine. Voir, par *exemple*, RLP Adams *et al.* *The Biochemistry of the Nucleic Acids* (11^e édition, 1992).

[0227] Par « hybrider préférentiellement », on entend que dans des conditions d'hybridation rigoureuses, un oligomère de sonde d'amplification ou de détection peut s'hybrider à son acide nucléique cible pour former un hybride cible d'oligomères stables, mais

pas un nombre suffisant d'hybrides non cibles d'oligomères stables. Les oligomères d'amplification et de détection qui s'hybrident préférentiellement à un acide nucléique cible sont utiles pour amplifier et détecter des acides nucléiques cibles, mais pas des organismes non ciblés, en particulier des organismes étroitement apparentés sur le plan phylogénétique. Ainsi, l'oligomère s'hybride à l'acide nucléique cible dans une mesure suffisamment supérieure à celle de l'acide nucléique non cible pour permettre au spécialiste du domaine d'amplifier et/ou de détecter avec précision la présence (ou l'absence) d'acide nucléique dérivé de la cible spécifiée, le cas échéant. En général, la réduction du degré de complémentarité entre une séquence oligonucléotidique et sa séquence cible diminuera le degré ou le taux d'hybridation de l'oligonucléotide à sa région cible. Cependant, l'inclusion d'au moins un nucléoside ou d'au moins une nucléobase non complémentaire peut faciliter la capacité d'un oligonucléotide à discriminer contre des organismes non cibles.

[0228] L'hybridation préférentielle peut être mesurée à l'aide des techniques connues dans le domaine et décrites dans la présente invention, comme dans les exemples fournis ci-dessous. Dans certains modes de réalisation, il existe au moins une différence d'au moins 10 fois entre les signaux d'hybridation cibles et non cibles dans un échantillon de test, d'au moins une différence de 100 fois ou d'au moins 1 000 fois. Dans certains modes de réalisation, les signaux d'hybridation non cibles dans un échantillon de test ne sont pas supérieurs au niveau du signal de fond.

[0229] Par « conditions d'hybridation rigoureuses », ou « conditions rigoureuses », on entend des conditions permettant à un oligomère de s'hybrider préférentiellement à un acide nucléique cible et non à un acide nucléique dérivé d'un acide nucléique non cible étroitement lié. Bien que la définition des conditions d'hybridation rigoureuses ne varie pas, l'environnement réactionnel réel qui peut être utilisé pour une hybridation rigoureuse peut varier en fonction de facteurs tels que la teneur en GC et la longueur de l'oligomère, le degré de similarité entre la séquence d'oligomères et les séquences d'acides nucléiques non cibles pouvant être présents dans l'échantillon de test, et la séquence cible. Les conditions d'hybridation comprennent la température et la composition des réactifs ou des solutions d'hybridation. Des conditions de test d'hybridation exemplaires pour amplifier et/ou détecter des acides nucléiques cibles dérivés d'au moins un sérotype à GBS avec les oligomères de la présente invention correspondent à une température d'environ 60 °C lorsque la concentration en sel, telle qu'un sel monovalent, *par exemple*, KCl, se situe dans la plage d'environ 0,6 à 0,9 M. D'autres conditions de l'hybridation rigoureuses acceptables sont aisément déterminés par le spécialiste du domaine.

- [0230] Par « conditions de test », on entend des conditions permettant une hybridation stable d'un oligonucléotide à un acide nucléique cible. Les conditions de test ne nécessitent pas une hybridation préférentielle de l'oligonucléotide à l'acide nucléique cible.
- [0231] Le « marqueur » ou le « marqueur détectable » se réfère à une fraction ou à un composé relié directement ou indirectement à une sonde détectée ou conduisant à un signal détectable. La jonction directe peut utiliser des liaisons covalentes ou des interactions non covalentes (*par exemple*, les liaisons hydrogène, les interactions hydrophobes ou ioniques et la formation de chélates ou de complexes de coordination), tandis que la jonction indirecte peut utiliser une fraction de pontage ou un lieur (*par exemple*, par l'intermédiaire d'un anticorps ou au moins un oligonucléotide supplémentaire, qui amplifie un signal détectable). Tout fragment détectable peut être utilisé, *par exemple* un radionucléide, un ligand tel qu'une biotine ou une avidine, une enzyme, un substrat d'enzyme, un groupe réactif, un chromophore tel qu'un colorant ou une particule (*par exemple*, une perle de latex ou de métal) qui confère une couleur détectable, un composé luminescent (*par exemple*, un composé bioluminescent, phosphorescent ou chimioluminescent) et un composé fluorescent (*c'est-à-dire* un fluorophore). Les modes de réalisation des fluorophores comprennent ceux qui absorbent la lumière dans la plage d'environ 495 à 650 nm et émettent de la lumière dans la plage d'environ 520 à 670 nm, qui comprennent ceux appelés composés FAMTM, TETTM, CAL FLUORTM (orange ou rouge), et QUASARTM. Les fluorophores peuvent être utilisés en combinaison avec une molécule d'extincteur qui absorbe la lumière à proximité du fluorophore pour réduire la fluorescence de fond. De tels extincteurs sont bien connus dans le domaine et comprennent, *par exemple*, les composés BLACK HOLE EXTINGTEURTM (ou BHQTM) ou TAMRATM. Les modes de réalisation particuliers comprennent un « marqueur détectable homogène » qui est détectable dans un système homogène dans lequel la sonde marquée liée dans un mélange présente un changement détectable par rapport à la sonde marquée non liée, ce qui permet de détecter le marqueur sans éliminer physiquement la sonde hybridée de la sonde marquée non hybridée (*par exemple*, brevets américains n° 5 283 174, 5 656 207 et 5 658 737). Les marqueurs détectables homogènes particuliers comprennent des composés chimioluminescents, comprenant des composés d'ester d'acridinium (« AE »), tels que des dérivés AE ou AE classiques qui sont bien connus (brevets américains n° 5 656 207, 5 658 737 et 5 639 604). Les procédés de synthèse de marqueurs, de fixation de marqueurs à l'acide nucléique et de détection de signaux à partir de marqueurs sont bien connus (*par exemple*, Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2^e édition) (Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 1989), chapitre 10 et brevet américain 5 658 737, 5 656

207, 5 547 842, 5 283 174 et 4 581 333, et brevets EP n° demande 0 747 706). Les procédés particuliers de liaison d'un composé AE à un acide nucléique sont connus (*par exemple*, brevets américains n° 5 585 481 et 5 639 604, *voir* colonne 10, lignes 6 à 11, ligne 3 et exemple 8). Les positions de marquage AE particulières sont la région centrale d'une sonde et près d'une région de paires de bases A/T, à l'extrémité 3' ou 5' d'une sonde, au niveau d'un site de mésappariement avec une séquence connue ou près de celui-ci, laquelle séquence ne doit pas être détectée par la sonde par rapport à la séquence cible souhaitée. Les autres sondes marquées de manière détectable comprennent les sondes TaqMan™, les torches moléculaires et les balises moléculaires. Les sondes TaqMan™ comprennent un marqueur donneur et accepteur, la fluorescence étant détectée lors de la dégradation enzymatique de la sonde pendant l'amplification pour libérer le fluorophore de la présence de l'extincteur. Les torches et les balises moléculaires existent dans des configurations ouvertes et fermées, la configuration fermée éteignant le fluorophore et la position ouverte séparant le fluorophore de l'extincteur pour permettre la fluorescence. L'hybridation à la cible ouvre les sondes autrement fermées.

[0232] Les séquences sont « suffisamment complémentaires » si elles permettent une hybridation stable de deux séquences d'acides nucléiques, *par exemple* des hybrides stables de séquences de sonde et de séquences cibles, bien que les séquences n'aient pas besoin d'être complètement complémentaires. C'est-à-dire une séquence « suffisamment complémentaire » qui s'hybride à une autre séquence par liaison hydrogène entre une série de nucléotides complémentaires à l'aide d'un appariement de bases standard (*par exemple*, G : C, A : T ou A : U), bien que les deux séquences puissent contenir au moins un résidu (comprenant des positions abasiques) qui ne sont pas complémentaires tant que les séquences entières dans des conditions d'hybridation appropriées pour former un complexe d'hybridation stable. Des séquences suffisamment complémentaires peuvent être d'au moins environ 80 %, d'au moins environ 90 % ou complètement complémentaires dans les séquences qui s'hybrident ensemble. Les conditions d'hybridation appropriées sont bien connues des spécialistes du domaine, peuvent être prédites sur la base de la composition de séquence, ou peuvent être déterminées de manière empirique à l'aide de tests de routine (*par exemple*, Sambrook *et al.*, *Molecular Cloning, A Laboratory Manual*, 2^e édition, §§ 1.90-1.91, 7.37-7.57, 9.47-9.51 et 11.47-11.57, en particulier §§ 9.50-9.51, 11.12-11.13, 11.45-11.47 et 11.55-11.57).

[0233] Un oligomère « non extensible » comprend une fraction de blocage à son extrémité 3' ou à près de celle-ci pour empêcher l'extension. Un groupe de blocage près de l'extrémité 3' est, dans certains modes de réalisation, dans les cinq résidus de

l'extrémité 3' et est suffisamment grand pour limiter la liaison d'une polymérase à l'oligomère, et d'autres modes de réalisation contiennent un groupe de blocage lié de manière covalente à l'extrémité 3'. De nombreux groupes chimiques différents peuvent être utilisés pour bloquer l'extrémité 3', *par exemple*, des groupes alkyle, des groupes de liaison non nucléotidiques, des résidus de didésoxynucléotides d'alcane-diol et de la cordycépine. D'autres exemples de fractions de blocage comprennent un nucléotide 3'-désoxy (*par exemple*, un nucléotide 2',3'-didésoxy) ; un nucléotide 3'-phosphorylé ; un fluorophore, un extincteur ou un autre marqueur qui interfère avec l'extension ; un nucléotide inversé (*par exemple*, lié au nucléotide précédent par un 3'-à-3' phosphodiester, éventuellement avec un 5'-OH ou un phosphate exposé) ; ou une protéine ou un peptide lié à l'oligonucléotide pour empêcher toute extension supplémentaire d'une chaîne d'acides nucléiques naissante par une polymérase. Un oligonucléotide non-extensible de la présente invention peut avoir une longueur d'au moins 10 bases et une longueur allant jusqu'à 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50 ou plus. Des oligonucléotides non extensibles comprenant un marqueur détectable peuvent être utilisés comme sondes.

[0234] Les références, en particulier dans les revendications, à « la séquence de SEQ ID N° : X » renvoient à la séquence de bases de l'entrée de listage de séquences correspondante et ne nécessitent pas l'identité du squelette (*par exemple*, ARN, 2'-O-Me ARN, ou ADN) ou des modifications de bases (*par exemple*, méthylation de résidus de cytosine) à moins que le contexte n'indique clairement le contraire.

[0235] La « préparation d'échantillon » renvoie à toute étape ou procédé qui traite un échantillon pour une amplification et/ou une détection ultérieure des acides nucléiques à GBS présents dans l'échantillon. Les échantillons peuvent être des mélanges complexes de composants dont l'acide nucléique cible est un composant minoritaire. La préparation d'échantillon peut comprendre tout procédé connu de composant de concentration, tels que des microbes ou des acides nucléiques, à partir d'un volume d'échantillon plus important, par exemple par filtration de particules en suspension dans l'air ou présentes dans l'eau d'un échantillon de volume plus important ou par l'isolement des microbes à partir d'un échantillon à l'aide de procédés standard de microbiologie. La préparation d'échantillon peut comprendre une perturbation physique et/ou une lyse chimique de composants cellulaires pour libérer des composants intracellulaires dans une phase sensiblement aqueuse ou organique et l'élimination des débris, par exemple par filtration, centrifugation ou adsorption. La préparation de l'échantillon peut comprendre l'utilisation d'un oligonucléotide d'acide nucléique qui capture de manière sélective ou non spécifique un acide nucléique cible et le sépare des autres composants d'échantillon (*par exemple*, comme décrit dans le

brevet américain n° 6 110 678 et la publication de demande de brevet internationale WO 2008/016988, chacun étant cité dans la présente invention à titre de référence).

[0236] « Séparer » ou « purifier » signifie qu'au moins un composant d'un échantillon est retiré ou séparé des autres composants d'échantillon. Les composants d'échantillon comprennent des acides nucléiques cibles habituellement dans une phase de solution généralement aqueuse, pouvant également comprendre des fragments cellulaires, des protéines, des glucides, des lipides et d'autres acides nucléiques. « Séparer » ou « purifier » n'implique pas de degré de purification. Typiquement, la séparation ou la purification élimine au moins 70 %, ou au moins 80 %, ou au moins 95 % de l'acide nucléique cible des autres composants d'échantillon.

[0237] Le terme « tensioactif non linéaire », tel qu'utilisé dans la présente invention, désigne un tensioactif comportant une structure de chaîne ramifiée. Un tensioactif non linéaire peut comprendre au moins une structure cyclique, qui peut se trouver, par exemple, dans une chaîne principale et/ou dans au moins une chaîne ramifiée. Les tensioactifs non linéaires exemplaires comprennent le polysorbate 20, le polysorbate 40, le polysorbate 60 et la digitonine. Dans certaines variantes, un tensioactif non linéaire est non ionique.

[0238] Le terme « spécificité », dans le contexte d'un système d'amplification et/ou de détection, est utilisé dans la présente invention pour faire référence à la caractéristique du système qui décrit sa capacité à distinguer les séquences cibles des séquences non cibles en fonction des conditions de séquence et de test. En termes d'amplification d'acide nucléique, la spécificité désigne généralement le rapport entre le nombre d'amplicons spécifiques produits et le nombre de produits secondaires (*par exemple*, le rapport signal/bruit). En termes de détection, la spécificité désigne généralement le rapport du signal produit à partir d'acides nucléiques cibles au signal produit à partir d'acides nucléiques non cibles.

[0239] Le terme « sensibilité » est utilisé dans la présente invention pour désigner la précision avec laquelle une réaction d'amplification d'acide nucléique peut être détectée ou quantifiée. La sensibilité d'une réaction d'amplification est généralement une mesure du plus petit nombre de copies de l'acide nucléique cible pouvant être détecté de manière fiable dans le système d'amplification, et dépend, par exemple, du test de détection utilisé et de la spécificité de la réaction d'amplification, *par exemple*, le rapport des amplicons spécifiques aux produits secondaires.

DESCRIPTION DÉTAILLÉE DE L'INVENTION

[0240] La présente invention concerne des compositions, des kits et des procédés permettant d'amplifier et de détecter l'acide nucléique à streptocoque de groupe B (GBS ; *Streptococcus agalactiae*) à partir d'un échantillon. De préférence, les

échantillons sont des échantillons biologiques. Les compositions, les kits et les procédés fournissent des séquences d'oligonucléotides qui reconnaissent des séquences cibles du génome à GBS, comprenant les séquences cibles de sérotypes à GBS Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VI, VII, VIII et IX, ou leurs séquences complémentaires. De tels oligonucléotides peuvent être utilisés comme oligonucléotides d'amplification, qui peuvent comprendre des amorces, des promoteurs-amorces, des oligonucléotides bloqués et des oligonucléotides fournisseurs de promoteurs, dont les fonctions ont été décrites précédemment (*voir, par exemple*, les brevets américains n° 4 683 195 ; 4 683 202 ; 4 800 159 ; 5 399 491 ; 5 554 516 ; 5 824 518 et 7 374 885, chacun étant cité dans la présente invention à titre de référence). D'autres oligonucléotides peuvent être utilisés comme sondes pour détecter des séquences amplifiées de GBS ou pour capturer un acide nucléique cible à GBS.

[0241] Les procédés permettent la détection sensible et spécifique d'acides nucléiques à GBS. Les procédés consistent à effectuer une amplification d'acide nucléique d'une région cible à GBS et à détecter le produit amplifié, par exemple, par l'hybridation spécifique du produit amplifié à l'aide d'une sonde de détection d'acide nucléique qui fournit un signal indiquant la présence de GBS dans l'échantillon. L'étape d'amplification comprend la mise en contact de l'échantillon avec au moins un oligomère d'amplification spécifique d'une séquence cible dans un acide nucléique cible à GBS afin de produire un produit amplifié si un acide nucléique à GBS est présent dans l'échantillon. L'amplification synthétise des copies supplémentaires de la séquence cible ou de son complément à l'aide d'au moins une polymérase d'acide nucléique et d'un oligomère d'amplification pour produire les copies à partir d'un brin matrice (*par exemple*, par le prolongement de la séquence à partir d'une amorce à l'aide du brin matrice). Un mode de réalisation destiné à détecter le produit amplifié utilise une étape d'hybridation qui comprend la mise en contact du produit amplifié avec au moins un oligomère de sonde de détection spécifique d'une séquence amplifiée par les oligomères d'amplification choisis, *par exemple* une séquence présente dans la séquence cible flanquée d'une paire d'oligomères d'amplification choisis.

[0242] Les compositions préférées de la présente invention sont configurées pour s'hybrider spécifiquement à l'acide nucléique de tous les sérotypes à GBS, Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VI, VII, VIII et IX présentant une réactivité croisée minimale par rapport aux autres acides nucléiques à GBS suspectés d'être présents dans un échantillon (*par exemple*, d'autres agents pathogènes bactériens). Dans certaines variantes, les compositions de l'invention permettent en outre la détection de séquences sur une souche non hémolytique de GBS. Selon certains aspects, les compositions de la présente invention sont configurées pour s'hybrider spécifiquement à l'acide nucléique du GBS présentant une réactivité croisée minimale avec un ou plusieurs agents pathogènes non-GBS

énumérés dans l'un quelconque des tableaux 9-11, 15, 16, 20 et 22 (*voir Exemples, infra*). Selon un aspect, les compositions de la présente invention font partie d'un système multiplex qui comprend en outre des composants et des procédés permettant de détecter un ou plusieurs de ces agents pathogènes non-GBS.

- [0243] Selon certains aspects de l'invention, une composition comprenant au moins deux oligomères d'amplification est fournie pour déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon. Typiquement, la composition comprend au moins deux oligomères d'amplification destinés à amplifier une région cible d'un acide nucléique cible à GBS correspondant à la séquence de SEQ ID N° : 1 (gène *SIP*) ou de SEQ ID N° : 2 (gène *CFB*). Dans ces modes de réalisation, au moins un oligomère d'amplification comprend une séquence d'hybridation cible dans l'orientation de sens (« THS sens ») et au moins un oligomère d'amplification comprend une séquence d'hybridation cible dans l'orientation d'antisens (« THS antisens »), où le sens THS et l'antisens THS sont chacun configurés pour s'hybrider spécifiquement à une séquence cible de GBS correspondant à une séquence présente dans SEQ ID N° : 1 ou SEQ ID N° : 2 et où les séquences d'hybridation cibles sont choisies de telle manière que la séquence de GBS ciblée par le THS antisens se trouve en aval de la séquence de GBS ciblée par le THS sens (*c'est-à-dire* que les au moins deux oligomères d'amplification sont situés de telle manière qu'ils flanquent la région cible à amplifier).
- [0244] Dans certaines variantes, une composition comprend (i) un oligomère d'amplification spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible spécifique à *SIP* correspondant sensiblement ou identique à la séquence indiquée dans SEQ ID N° : 3, SEQ ID N° : 4, SEQ ID N° : 7, ou SEQ ID N° : 8, ou son complément ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci. Dans certaines variantes, une composition comprend (ii) un oligomère d'amplification spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus et correspondant sensiblement ou identique à une séquence qui est présente dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou son complément ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci ; dans certains de ces modes de réalisation, la séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* comprend une séquence qui correspond sensiblement ou est identique à la séquence de SEQ ID N° : 28 ou de SEQ ID N° : 27, ou son complément ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci (*par exemple*, une séquence correspondant sensiblement ou identique à la séquence indiquée dans SEQ ID N° : 12 ou SEQ ID N° : 14, ou son complément ou équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci), ou est une séquence correspondant sensiblement ou identique à la séquence indiquée dans SEQ ID N° : 18, ou son complément ou un équivalent d'ARN ou

chimère d'ADN/ARN de celle-ci. Dans certaines variantes, une composition comprend (iii) un oligomère d'amplification spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* correspondant sensiblement ou identique à la séquence indiquée dans SEQ ID N° : 13, SEQ ID N° : 15, SEQ ID N° : 16, SEQ ID N° : 17, ou SEQ ID N° : 20, ou SEQ ID N° : 21 ou leur complément ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci. Dans des variantes comprenant un oligomère d'amplification spécifique à *SIP* ou à *CFB* de (i), (ii) ou (iii) comme ci-dessus, la combinaison d'oligomères comprend au moins un oligomère d'amplification comprenant une séquence d'hybridation cible spécifique à *SIP* ou à *CFB* de polarité opposée (sens contre antisens ou *vice-versa*) comme séquence d'hybridation cible de l'oligomère de (i), (ii) ou (iii), de sorte qu'au moins deux oligomères d'amplification flanquent une région cible à amplifier. Dans certains modes de réalisation, la composition est fournie sous la forme d'une formulation aqueuse ou séchée pour l'amplification d'acide nucléique à GBS, ou d'un mélange réactionnel comprenant à partir d'une telle formulation ou reconstitué à partir de celle-ci.

[0245] Dans des modes de réalisation plus spécifiques à la présente invention, une composition destinée à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon comprend (1) au moins un oligomère d'amplification comprenant une région d'hybridation cible spécifique à *SIP* ou à *CFB* correspondant sensiblement à au moins une séquence d'oligomères sens décrite dans le tableau 1 ci-dessous, et (2) au moins un oligomère d'amplification comprenant une région d'hybridation cible spécifique à *SIP* ou à *CFB* correspondant sensiblement à au moins une séquence d'oligomères antisens décrite dans le tableau 1. Dans certains de ces modes de réalisation, la composition comprend un premier oligomère d'amplification spécifique à *SIP* et un premier oligomère d'amplification spécifique à *CFB* de (1) ci-dessus et un second oligomère d'amplification spécifique à *SIP* et un second à *CFB* de (2) ci-dessus. Dans des variantes particulières, l'au moins une séquence d'hybridation cible sens et/ou antisens d'une combinaison d'oligomères d'amplification comprend ou est constituée par l'au moins une séquence sens et/ou antisens choisie dans le tableau 1.

[0246] **Tableau 1 : exemples de séquences d'hybridation cibles d'oligomères d'amplification sens et antisens pour l'amplification de régions cibles de GBS *SIP* ou *CFB***

SEQ ID NO :	Séquence (5' → 3')	Sense/antisense¹	Gène cible
3	CAGTCGCAAGTGTTCAAGC	Sens	<i>SIP</i>
4	AACGCTTAGTGTATCACCATAT	Antisens	<i>SIP</i>
7	AACAAATGCTGCTGGTCAAA	Sens	<i>SIP</i>
8	AGAATATGTCTTCATTGGCGAA	Antisens	<i>SIP</i>
12	GTGGCTGGTGCATTGTTATTT	Sens	<i>CFB</i>
13	CCATTTGCTGGGCTTGATTATT	Antisens	<i>CFB</i>
14	TAGTGGCTGGTGCATTGTT	Sens	<i>CFB</i>
15	CATTTGCTGGGCTTGATTATTACT	Antisens	<i>CFB</i>
16	CTGGAATACACGCTTTACTAGAGATA	Sens	<i>CFB</i>
17	ACTTGTTGTACCGTAACATTTGG	Antisens	<i>CFB</i>
18	TATCTATCTGGAAGCTCTAGTGGCT	Sens	<i>CFB</i>
20	CAAAGATAATGTTTCAGGGAACAGA	Sens	<i>CFB</i>
21	GCTTCTACACGACTACCAATAGA	Antisens	<i>CFB</i>

¹La désignation Sens/Antisense de ces séquences est donnée à titre d'exemple uniquement. Cette désignation ne limite pas nécessairement une séquence de la désignation qui l'accompagne.

[0247] Dans certaines variantes, une composition destinée à déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon tel que décrit dans la présente invention comprend en outre au moins un oligomère de sonde de détection configuré pour s'hybrider spécifiquement à une séquence cible *SIP* ou *CFB* à GBS amplifiable à l'aide des premier et second oligomères d'amplification (*par exemple*, une séquence cible *SIP* ou *CFB* présente dans SEQ ID N° : 1 ou SEQ ID N° : 2, ou son complément, qui est flanquée par les séquences d'hybridation cibles des premier et second oligomères d'amplification). Les oligomères de sonde de détection spécifiques à *SIP* particulièrement appropriés comprennent, par exemple, des oligomères comprenant une séquence d'hybridation cible spécifique à *SIP* correspondant sensiblement ou identique à la séquence indiquée dans SEQ ID N° : 9 ou SEQ ID N° : 11, ou son complément ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci. Les oligomères de sonde de détection spécifiques à *CFB* particulièrement appropriés

comprennent, par exemple, des oligomères comprenant une séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* correspondant sensiblement ou identique à la séquence indiquée dans SEQ ID N° : 22, N°: 23, SEQ ID N°: 24, ou SEQ ID N° : 25, ou son complément ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci. Un oligomère de sonde de détection peut contenir un squelette 2'-méthoxy au niveau d'une ou de plusieurs liaisons dans le squelette d'acide nucléique. Dans certaines variantes, une composition comprend au moins deux oligomères de sonde de détection. Dans certains modes de réalisation, un oligomère de sonde de détection est fourni dans une formulation aqueuse ou séchée pour la détection de l'acide nucléique à GBS, ou d'un mélange réactionnel comprenant une telle formulation ou reconstitué à partir de celle-ci.

[0248] Typiquement, un oligomère de sonde de détection conforme à la présente invention comprend en outre un marqueur. Les marqueurs particulièrement appropriés comprennent les composés qui émettent un signal lumineux détectable, *par exemple* des fluorophores ou des composés luminescents (*par exemple*, chimioluminescents) pouvant être détectés dans un mélange homogène. Plusieurs marqueurs et plusieurs types de marqueurs peuvent être présents sur une sonde particulière, ou la détection peut reposer sur l'utilisation d'un mélange de sondes dans lequel chaque sonde est marquée d'un composé qui produit un signal détectable (*voir, par exemple*, US-A-6 180 340 et 6 350 579, chacun étant cité dans la présente invention à titre de référence). Les marqueurs peuvent être fixés à une sonde par divers moyens, comprenant des liaisons covalentes, une chélation et des interactions ioniques, mais de préférence le marqueur est fixé de manière covalente. Par exemple, dans certains modes de réalisation, une sonde de détection comporte un marqueur chimioluminescent fixé tel que, *par exemple*, un composé d'ester d'acridinium (AE) (*voir, par exemple*, les brevets américains n° 5 185 439 ; 5 639 604 ; 5 585 481 et 5 656 744 ; chacun étant cité dans la présente invention à titre de référence). Un marqueur, tel que, *par exemple*, un marqueur fluorescent ou chimioluminescent, est typiquement fixé à la sonde par un lieu non nucléotidique (*voir, par exemple*, les brevets américains n° 5 585 481 ; 5 656 744 ; et 5 639 604, particulièrement à la colonne 10, ligne 6 à colonne 11, ligne 3 et exemple 8, chacun étant cité dans la présente invention à titre de référence).

[0249] Dans certains modes de réalisation, une sonde (comprenant, *par exemple*, un marqueur fluorescent) comprend en outre un second marqueur qui interagit avec le premier marqueur. Par exemple, la second marqueur peut être un extincteur. Les sondes de détection, comprenant à la fois un marqueur fluorescent et un extincteur, une combinaison, sont particulièrement utiles dans les tests de transfert d'énergie par résonance de fluorescence (FRET). Les variantes spécifiques de ces sondes

de détection comprennent, *par exemple*, une sonde de détection# TaqMan (Roche Molecular Diagnostics) et une « balise moléculaire » (*voir, par exemple*, Tyagi *et al.*, *Nature Biotechnol.* 16 : 49-53, 1998 ; brevets américains n° 5 118 801 et 5 312 728, chacun étant cité dans la présente invention à titre de référence). Les sondes# TaqMan (ou les sondes linéaires similaires à double marquage comprenant à la fois un marqueur fluorescent et un extincteur), peuvent être utilisées dans des tests où l'hybridation de la sonde à une cible ou à un amplicon suivie d'une nucléolyse par une polymérase comprenant une activité exonucléase 5'-3' entraîne la libération du marqueur fluorescent et par conséquent une fluorescence accrue, ou une fluorescence indépendante de l'interaction avec le second marqueur.

[0250] Dans certaines applications, une sonde de détection présentant au moins un certain degré d'auto-complémentarité est utilisée pour faciliter la détection de sonde:duplexes cibles dans un échantillon de test sans nécessiter au préalable le retrait de la sonde non hybridée avant la détection. Les modes de réalisation spécifiques de ces sondes de détection comprennent, *par exemple*, des sondes qui forment des conformations maintenues par hybridation intramoléculaire, telles que des conformations généralement dites en épingle à cheveux. Les sondes en épingle à cheveux appropriées comprennent une « torche moléculaire » (*voir, par exemple*, les brevets américains n° 6 849 412 ; 6 835 542 ; 6 534 274 ; et 6 361 945) et une « balise moléculaire » (*voir, par exemple*, les brevets américains n° 5 118 801 et 5 312 728). Les torches moléculaires comprennent des régions distinctes d'auto-complémentarité (« domaine de liaison cible » et « domaine de fermeture cible ») qui sont reliées par une région de jonction (*par exemple*, un lieu $-(CH_2CH_2O)_3$) et qui s'hybrident les unes aux autres dans des conditions d'analyse d'hybridation prédéfinies. Lorsqu'elles sont exposées à une cible appropriée ou à des conditions dénaturantes, les deux régions complémentaires (qui peuvent être totalement ou partiellement complémentaires) de la torche moléculaire fondent, laissant le domaine de liaison cible disponible pour l'hybridation à une séquence cible lorsque les conditions de test d'hybridation prédéfinies sont restaurées. Les torches moléculaires sont conçues pour que le domaine de liaison cible favorise l'hybridation à la séquence cible par rapport au domaine de fermeture cible. Le domaine de liaison cible et le domaine de fermeture cible d'une torche moléculaire comprennent des marqueurs en interaction (*par exemple*, fluorescent/extincteur) positionnés de manière à ce qu'un signal différent soit produit lorsque la torche moléculaire s'auto-hybride par opposition à l'hybridation de la torche moléculaire à un acide nucléique cible, permettant ainsi la détection de sonde:duplexes cibles dans un échantillon de test en présence d'une sonde non hybridée comportant un marqueur viable qui lui est associé.

- [0251] Dans d'autres modes de réalisation, une sonde de détection est un oligomère linéaire qui ne forme pas sensiblement de conformations maintenues par des liaisons intramoléculaires. Dans des variantes spécifiques, un oligomère de sonde de détection linéaire comprend un composé chimiluminescent comme marqueur (*par exemple*, un composé ester d'acridinium (AE)). Dans d'autres modes de réalisation, un oligomère de sonde de détection linéaire comprend un fluorophore comme marqueur. Dans certains modes de réalisation d'un oligomère de sonde de détection linéaire comprenant un fluorophore, l'oligomère comprend en outre une fraction d'extinction (*par exemple*, une sonde TaqMan).
- [0252] Des exemples de paires de marqueurs donneur/accepteur en interaction pouvant être utilisées dans le cadre de la divulgation, sans chercher à distinguer les paires FRET des paires non-FRET, comprennent le colorant à base de fluorescéine/tétraméthylrhodamine, d'IAEDANS/fluorescéine, d'EDANS/DABCYL, de coumarine/DABCYL, de fluorescéine/fluorescéine, de BODIPY FL/BODIPY FL, de fluorescéine/DABCYL, de jaune lucifère/DABCYL, de BODIPY/DABCYL, d'éosine/DABCYL, d'érythrosine/DABCYL, de tétraméthylrhodamine/DABCYL, de rouge Texas/DABCYL, de CY5/BH1, de CY5/BH2, de CY3/BH1, de CY3/BH2 et de fluorescéine/QSY7. Le spécialiste ordinaire du domaine comprendra que, lorsque les colorants donneur et accepteur sont différents, le transfert d'énergie peut être détecté par l'apparition d'une fluorescence sensibilisée de l'accepteur ou par l'extinction de la fluorescence du donneur. Les accepteurs non fluorescents tels que les colorants DABCYL et QSY7 éliminent avantageusement le problème potentiel de la fluorescence de fond résultant d'une excitation directe (*c'est-à-dire* non sensibilisée) de l'accepteur. Des exemples de fractions de fluorophore qui peuvent être utilisées en tant que membre d'une paire donneur-accepteur comprennent la fluorescéine, les colorants ROX et CY (tels que CY5). Des exemples de fractions d'extincteur pouvant être utilisées en tant que membre d'une paire donneur-accepteur comprennent les fractions DABCYL et BLACK HOLE QUENCHER disponibles auprès de Biosearch Technologies, Inc., (Novato, Calif.).
- [0253] Dans certains modes de réalisation, un oligomère marqué (*par exemple*, une sonde de détection) est non extensible. Par exemple, l'oligomère marqué peut être rendu non extensible par 3'-phosphorylation, comportant un 3'-désoxynucléotide terminal 3'-terminal (*par exemple*, un 2',3'-didésoxy-nucléotide terminal), comportant un nucléotide inversé 3'-terminal (*par exemple*, dans lequel le dernier nucléotide est inversé de telle manière qu'il est relié au pénultième nucléotide par une liaison phosphodiester 3' à 3' ou un analogue de celle-ci, tel qu'un phosphorothioate), ou comportant un fluorophore, un extincteur fixé, ou tout autre marqueur qui interfère avec l'extension (éventuellement mais pas nécessairement fixée par l'intermédiaire de la position 3' du

nucléotide terminal). Dans certains modes de réalisation, le nucléotide 3'-terminal n'est pas méthylé.

[0254] La présente invention fournit également des compositions comprenant un ou plusieurs oligomères de sonde de détection tels que décrits dans la présente invention.

[0255] Selon certains aspects, la présente invention fournit des procédés utilisant un oligomère ou une combinaison d'oligomères tels que décrits dans la présente invention. Tout procédé décrit dans la présente invention doit également être compris comme une divulgation d'utilisations correspondantes des matériaux impliqués dans le procédé et visant l'objectif du procédé. L'un quelconque des oligomères comprenant une séquence d'hybridation cible *SIP* ou *CFB* à GBS séquence toute combinaison (*par exemple*, des kits et des compositions) comprenant un tel oligomère doivent être compris comme également décrits pour une utilisation dans la détection ou la quantification de GBS, et pour une utilisation dans la préparation d'une composition de détection ou de quantification de GBS.

[0256] De manière générale, les procédés peuvent comprendre un ou plusieurs des composants suivants : capture cible, dans laquelle l'acide nucléique à GBS (*par exemple*, à partir d'un échantillon, tel qu'un échantillon clinique) est recuite pour un oligomère de capture ; l'isolement, *par exemple* le lavage, pour éliminer les matières non associées à un oligomère de capture ; l'amplification ; et la détection d'amplicons, *par exemple* la quantification d'amplicons, qui peut être effectuée en temps réel à l'aide d'une amplification. Certains modes de réalisation impliquent chacune des étapes précédentes. Certains modes de réalisation impliquent une amplification exponentielle, éventuellement avec une étape d'amplification linéaire précédente. Certains modes de réalisation impliquent une amplification exponentielle et une détection d'amplicon. Certains modes de réalisation impliquent deux des composants énumérés ci-dessus. Certains modes de réalisation impliquent deux composants énumérés de manière adjacente ci-dessus, *par exemple*, le lavage et l'amplification, ou l'amplification et la détection.

[0257] Dans certains modes de réalisation, la présente invention fournit un procédé destiné à déterminer la présence ou l'absence de streptocoque de groupe B (GBS) dans un échantillon à l'aide d'une combinaison d'oligomères telle que décrite dans la présente invention. Un tel procédé comprend généralement (1) la mise en contact de l'échantillon avec au moins deux oligomères d'amplification pour amplifier une région cible d'acides nucléiques *SIP* ou *CFB* à GBS correspondant à un acide nucléique cible *SIP* ou *CFB*, où les au moins deux oligomères d'amplification sont tels que décrits ci-dessus ; (2) la réalisation d'une réaction d'amplification d'acides nucléiques *in vitro*, où tout acide nucléique cible *SBS* ou *CFB* à GBS présent dans l'échantillon est utilisé comme matrice pour générer un produit d'amplification ; et (3) la détection de

la présence ou de l'absence du produit d'amplification, déterminant ainsi la présence ou l'absence de GBS dans l'échantillon. Un procédé de détection selon la présente invention comprend en outre typiquement l'étape d'obtention de l'échantillon à mettre en contact avec les au moins deux oligomères d'amplification. Dans certains modes de réalisation, « obtenir » un échantillon à utiliser aux étapes (1) à (3) comprend, par exemple, la réception de l'échantillon dans une installation de test ou dans un autre lieu où une ou plusieurs étapes du procédé sont réalisées, et/ou la récupération de l'échantillon à partir d'un emplacement (*par exemple*, à partir d'un stockage ou d'un autre dépôt) dans une installation où une ou plusieurs étapes du procédé sont réalisées.

[0258] L'amplification d'une séquence cible de GBS utilise une réaction d'amplification *in vitro* à l'aide d'au moins deux oligomères d'amplification qui flanquent une région cible à amplifier. Dans des réalisations particulières, la région cible à amplifier est une région cible *SIP* à GBS correspondant sensiblement à SEQ ID N° : 1 d'environ la position de nucléotide 56 à environ la position de nucléotide 189 ou d'environ la position nucléotidique 349 à environ la position nucléotidique 489. Des combinaisons d'oligomères particulièrement appropriées pour l'amplification de ces régions cibles *SIS* à GBS sont décrites dans la présente invention. Par exemple, dans certains modes de réalisation, une combinaison d'oligomères d'amplification destinés à amplifier une région cible *SIP* comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprenant, respectivement, (A) une première séquence d'hybridation cible spécifique à *SIP* qui est SEQ ID N° : 3 ou une séquence correspondant sensiblement à SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et (B) une seconde séquence d'hybridation cible spécifique à *SIP* qui est SEQ ID N° : 4 ou une séquence sensiblement correspondant à SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, une combinaison d'oligomères d'amplification destinés à amplifier une région cible *SIP* comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprenant, respectivement, (A) une première séquence d'hybridation cible spécifique à *SIP* qui est SEQ ID N° : 7 ou une séquence correspondant sensiblement à SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et (B) une seconde séquence d'hybridation cible spécifique à *SIP* qui est SEQ ID N° : 8 ou une séquence sensiblement correspondant à SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.

[0259] Dans d'autres modes de réalisation, la région cible à amplifier est une région cible *CFB* à GBS correspondant sensiblement à SEQ ID NO : 2 d'environ la position nucléotidique 38 à environ la position nucléotidique 151, d'environ la position nucléotidique 22 à environ la position nucléotidique 151, d'environ la position

nucléotidique 192 à environ la position nucléotidique 329, ou d'environ la position nucléotidique 585 à environ la position nucléotidique 716. Des combinaisons d'oligomères particulièrement appropriées pour l'amplification de ces régions cibles *CFB* à GBS sont décrites dans la présente invention. Par exemple, dans certains modes de réalisation, une combinaison d'oligomères d'amplification destinés à amplifier une région cible de *CFB* comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprenant, respectivement, (A) une première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus et correspondant sensiblement à, ou identiques à, une séquence qui est présente dans la séquence de SEQ ID NO : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci, et (B) une seconde séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* qui est SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15 ou une séquence correspondant sensiblement à SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci ; dans des variantes plus spécifiques d'une telle première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (A), la séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* est choisie parmi (i) une séquence qui correspond sensiblement ou est identique à la séquence de SEQ ID N° : 28 ou SEQ ID NO : 27, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci (*par exemple*, une séquence qui est SEQ ID N° : 12 ou SEQ ID N° : 14 ou une séquence qui correspond sensiblement à SEQ ID N° : 12 ou SEQ ID N° : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celle-ci), et (ii) une séquence qui est SEQ ID N° : 18 ou une séquence correspondant sensiblement à SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou chimère d'ADN/ARN de celle-ci. Dans d'autres modes de réalisation, une combinaison d'oligomères d'amplification destinés à amplifier une région cible *CFB* comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprenant, respectivement, (A) une première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* qui est SEQ ID N° : 16 ou une séquence correspondant sensiblement à SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et (B) une seconde séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* qui est SEQ ID N° : 17 ou une séquence sensiblement correspondant à SEQ ID N° : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, une combinaison d'oligomères d'amplification destinés à amplifier une région cible *CFB* comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprenant, respectivement, (A) une première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* qui est SEQ ID N° : 18 ou une séquence correspondant sensiblement à SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et (B) une seconde séquence d'hybridation cible

spécifique à *CFB* qui est SEQ ID N° : 15 ou une séquence sensiblement correspondant à SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci. Dans d'autres modes de réalisation, une combinaison d'oligomères d'amplification destinés à amplifier une région cible *CFB* comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprenant, respectivement, (A) une première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* qui est SEQ ID N° : 20 ou une séquence correspondant sensiblement à SEQ ID N° : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et (B) une seconde séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* qui est SEQ ID N° : 21 ou une séquence sensiblement correspondant à SEQ ID N° : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.

[0260] Un procédé de détection selon la présente invention peut en outre comprendre l'étape d'obtention de l'échantillon à soumettre aux étapes ultérieures du procédé. Dans certains modes de réalisation, « obtenir » un échantillon à utiliser comprend, par exemple, la réception de l'échantillon dans une installation de test ou dans un autre lieu où une ou plusieurs étapes du procédé sont réalisées, et/ou la récupération de l'échantillon à partir d'un emplacement (*par exemple*, à partir d'un stockage ou d'un autre dépôt) dans une installation où une ou plusieurs étapes du procédé sont réalisées.

[0261] Dans certains modes de réalisation, le procédé comprend en outre la purification de l'acide nucléique cible à GBS d'autres composants d'échantillon, *par exemple* avant une amplification, comme avant une étape de capture. Cette purification peut comprendre des procédés de séparation et/ou de concentration des organismes présents dans un échantillon à partir d'autres composants d'échantillon, ou l'élimination ou la dégradation de composants d'échantillon d'acide non nucléique, *par exemple* d'une protéine, d'un glucide, d'un sel, d'un lipide, *etc.* Dans certains modes de réalisation, l'ADN dans l'échantillon est dégradé, *par exemple* par l'ADNse, et éventuellement l'élimination ou la désactivation de l'ADNse ou l'élimination de l'ADN dégradé.

[0262] Dans des modes de réalisation particuliers, la purification de l'acide nucléique cible comprend la capture de l'acide nucléique cible pour séparer de manière spécifique ou non spécifique l'acide nucléique cible d'autres composants d'échantillon. Les procédés de capture cible non spécifique peuvent impliquer la précipitation sélective d'acides nucléiques à partir d'un mélange essentiellement aqueux, l'adhérence d'acides nucléiques à un support lavé pour éliminer d'autres composants de l'échantillon, ou un autre moyen de séparer physiquement les acides nucléiques d'un mélange contenant l'acide nucléique à GBS et d'autres composants d'échantillon.

[0263] La capture de cible se produit généralement dans un mélange de phase de solution contenant un ou plusieurs oligomères de sonde de capture qui s'hybrident à la séquence cible *SIP* ou *CFB* à GBS dans des conditions d'hybridation. Pour les

modes de réalisation comprenant une queue de sonde de capture, le complexe cible à GBS:capture-sonde est capturé en par l'ajustement des conditions d'hybridation, de sorte que la queue de sonde de capture s'hybride à une sonde immobilisée. Certains modes de réalisation utilisent un support solide particulière, tel que des billes paramagnétiques.

- [0264] L'isolement peut suivre la capture, où, par exemple, le complexe sur le support solide est séparé des autres composants d'échantillon. L'isolement peut être réalisé par n'importe quelle technique appropriée, *par exemple*, par le lavage une ou plusieurs fois, *par exemple*, deux ou trois fois d'un support associé à la séquence cible *SIP* ou *CFB* à GBS pour éliminer d'autres composants d'échantillon et/ou l'oligomère non lié. Dans des modes de réalisation utilisant un support solide particulière, tel que des billes paramagnétiques, des particules associées à la cible à GBS peuvent être suspendues dans une solution de lavage et extraites de la solution de lavage, dans certains modes de réalisation par l'utilisation d'une attraction magnétique. Pour limiter le nombre d'étapes de manipulation, l'acide nucléique cible *SIP* ou *CFB* à GBS peut être amplifié en mélangeant simplement la séquence cible de GBS dans le complexe sur le support avec des oligomères d'amplification et en poursuivant les étapes d'amplification.
- [0265] L'amplification exponentielle d'une séquence cible de GBS utilise une réaction d'amplification *in vitro* à l'aide d'au moins deux oligomères d'amplification qui flanquent une région cible à amplifier. Dans certains modes de réalisation, au moins les premier et second oligomères tels que décrits dans la présente invention sont fournis. Dans certains modes de réalisation, une pluralité de paires d'oligomères sont fournies ; dans certaines de ces variations, une pluralité de paires d'oligomères comprennent des paires d'oligomères configurées pour s'hybrider à au moins deux acides nucléiques cibles à GBS (*par exemple*, au moins une paire d'oligomères configurée pour s'hybrider à un acide nucléique cible *SIP* et au moins une paire d'oligomères configurée pour s'hybrider à un acide nucléique cible *CFB*). La réaction d'amplification peut être cyclique ou isotherme. Les procédés d'amplification appropriées comprennent, par exemple, l'amplification médiée par la réplicase, la réaction en chaîne de polymérase (PCR), la réaction en chaîne de ligase (LCR), l'amplification par déplacement de brins (SDA) et l'amplification médiée par la transcription ou associée à la transcription (TMA).
- [0266] Une étape de détection peut être réalisée à l'aide l'une quelconque d'une variété de techniques connues pour détecter un signal spécifiquement associé à la séquence cible amplifiée, telle que, *par exemple*, l'hybridation du produit d'amplification à une sonde de détection marquée et par la détection d'un signal résultant de la sonde marquée (comprenant à partir d'un marqueur libéré de la sonde après l'hybridation dans certains modes de réalisation). Dans certains modes de réalisation, la sonde

marquée comprend un second fragment, tel qu'un extincteur ou un autre fragment qui interagit avec le premier marqueur, comme décrit ci-dessus. L'étape de détection peut également fournir des informations supplémentaires sur la séquence amplifiée, telles que, *par exemple*, la totalité ou une partie de sa séquence de base d'acides nucléiques. La détection peut être effectuée une fois la réaction d'amplification terminée ou peut être effectuée simultanément à l'amplification de la région cible, *par exemple* en temps réel. Dans un mode de réalisation, l'étape de détection permet une détection homogène, *par exemple*, la détection de la sonde hybridée sans élimination de la sonde non hybridée du mélange (*voir, par exemple*, les brevets américains n° 5 639 604 et 5 283 174). Dans certains modes de réalisation, les acides nucléiques sont associés à une surface qui entraîne un changement physique, tel qu'un changement électrique détectable. Les acides nucléiques amplifiés peuvent être détectés en les concentrant dans une matrice ou sur celle-ci et en détectant les acides nucléiques ou les colorants qui leur sont associés (*par exemple*, un agent intercalant tel que le bromure d'éthidium ou le cyber vert), ou en détectant une augmentation du colorant associé à l'acide nucléique dans la phase de solution. D'autres procédés de détection peuvent utiliser des sondes de détection d'acide nucléique configurées pour s'hybrider spécifiquement à une séquence du produit amplifié et détecter la présence du complexe sonde:produit, ou à l'aide d'un complexe de sondes qui peut amplifier le signal détectable associé aux produits amplifiés (*par exemple*, brevets américains n° 5 424 413 ; 5 451 503 ; et 5 849 481 ; chacun étant cité dans la présente invention à titre de référence). Les sondes marquées directement ou indirectement qui s'associent spécifiquement au produit amplifié fournissent un signal détectable qui indique la présence de l'acide nucléique cible dans l'échantillon. En particulier, le produit amplifié contient une séquence cible ou complémentaire d'une séquence dans le gène *SIP* ou *CFB* à GBS, et une sonde se lie directement ou indirectement à une séquence présente dans le produit amplifié pour indiquer la présence d'acide nucléique à GBS dans l'échantillon testé.

[0267] Dans les modes de réalisation qui détectent le produit amplifié à la fin de l'étape d'amplification ou presque, une sonde de détection linéaire peut être utilisée pour fournir un signal indiquant l'hybridation de la sonde au produit amplifié. Un exemple d'une telle détection utilise une sonde marquée par luminescence qui s'hybride avec l'acide nucléique cible. Le marqueur luminescent est ensuite hydrolysé à partir d'une sonde non hybridée. La détection est effectuée par chimioluminescence à l'aide d'un luminomètre. (*voir, par exemple*, la publication de demande de brevet internationale WO 89/002476, citée dans la présente invention à titre de référence). Dans d'autres modes de réalisation qui utilisent la détection en temps réel, la sonde de détection peut être une sonde en épingle à cheveux, telle que, par exemple, une balise moléculaire, une torche moléculaire ou une sonde à commutation d'hybridation qui est marquée par

une fraction rapporteuse qui est détectée lorsque la sonde se lie au produit amplifié (par exemple, une sonde en épingle à cheveux à double marquage comprenant à la fois un marqueur fluorescent et une fraction d'extinction). Dans d'autres modes de réalisation pour la détection en temps réel, la sonde de détection est un oligomère linéaire tel que, *par exemple*, un oligomère marqué à la fois par un fluorophore et une fraction d'extinction (*par exemple*, une sonde TaqMan). De telles sondes peuvent comprendre des séquences d'hybridation cibles et des séquences d'hybridation non-cibles. Diverses formes de telles sondes ont été décrites précédemment (*voir, par exemple*, les brevets américains n° 5 210 015 ; 5 487 972 ; 5 118 801 ; 5 312 728 ; 5 925 517 ; 6 150 097 ; 6 849 412 ; 6 835 542 ; 6 534 274 ; et 6 361 945 ; et les publications de demande de brevet américain n° 20060068417A1 et 20060194240A1 ; chacun étant cité dans la présente invention à titre de référence).

[0268] Les tests de détection de l'acide nucléique à GBS peuvent éventuellement comprendre un acide nucléique de contrôle interne (IC) non-GBS qui est amplifié et détecté dans les mêmes mélanges réactionnels de test à l'aide des oligomères d'amplification et de détection spécifiques à la séquence IC. Les séquences d'acide nucléique IC peuvent être, *par exemple*, un plasmide d'ADN, une séquence de matrice d'ARN (*par exemple*, un transcrit *in vitro*), ou un acide nucléique synthétique qui est ajouté à un échantillon. En variante, la séquence d'acides nucléiques IC peut être un composant cellulaire, qui peut provenir de sources cellulaires exogènes ou de sources cellulaires endogènes par rapport à l'échantillon. Dans ces cas, un acide nucléique de contrôle interne est co-amplifié par l'acide nucléique GBS dans les mélanges réactionnels d'amplification. Le produit d'amplification de contrôle interne et le produit d'amplification de séquence cible à GBS peuvent être détectés indépendamment.

[0269] Dans certains modes de réalisation, l'amplification et la détection d'un signal provenant d'une séquence IC amplifiée démontrent que les réactifs, les conditions et la réalisation des étapes de test ont été correctement utilisés dans le test si aucun signal n'est obtenu pour l'acide nucléique cible à GBS visé (*par exemple*, des échantillons dont le test au GBS est négatif). Un IC peut également être utilisé comme étalon interne pour le test lorsqu'un résultat quantitatif est souhaité, *c'est-à-dire* que le signal obtenu à partir de l'amplification et de la détection de l'IC est utilisé pour définir un paramètre utilisé dans un algorithme de quantification de la quantité d'acide nucléique à GBS dans un échantillon sur la base du signal obtenu pour une séquence cible de GBS amplifiée. Les IC sont également utiles pour surveiller l'intégrité d'une ou de plusieurs étapes dans un test. Les amorces et la sonde de la séquence cible IC sont configurées et synthétisées à l'aide d'un procédé bien connu quelconque, à condition

que les amorces et la fonction de sonde servent à l'amplification de la séquence cible IC et à la détection de la séquence IC amplifiée en utilisant sensiblement les mêmes conditions de test que celles utilisées pour amplifier et détecter la séquence cible à GBS. Dans les modes de réalisation préférés qui comprennent une étape de purification basée sur la capture de cible, il est préférable qu'une sonde de capture de cible spécifique à la cible IC soit incluse dans l'analyse lors de l'étape de capture de cible, de sorte que l'IC soit traité dans le test de manière analogue à celui de l'analyte à GBS visé dans toutes les étapes du test.

[0270] La présente invention fournit également des formulations pour déterminer la présence ou l'absence de GBS dans un échantillon. Dans certains modes de réalisation, une formulation est une formulation aqueuse comprenant (1) au moins deux oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* ou à *CFB* pour l'amplification d'une région cible *SIP* ou *CFB* telle que décrite dans la présente invention et (2) un tampon organique. Une formulation aqueuse destinée à l'amplification d'un acide nucléique à GBS peut comprendre un ou plusieurs composants supplémentaires tels que, *par exemple*, une enzyme ADN polymérase, une enzyme transcriptase inverse ou un oligomère de sonde de détection. Dans certains modes de réalisation, une formulation est une formulation aqueuse comprenant (1) un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* et/ou à *CFB* tel que décrit dans la présente invention et (2) sur un tampon organique. Une formulation aqueuse destinée à comprendre plusieurs oligomères de sonde de détection peut comprendre un ou plusieurs composants supplémentaires tels que, *par exemple*, un tensioactif, une enzyme ADN polymérase, une enzyme transcriptase inverse ou au moins un oligomère d'amplification. Les tensioactifs particulièrement appropriés comprennent, *par exemple*, le polyéthylène glycol mono [4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl) phényle] et les esters d'acides gras de sorbitane de polyoxyéthylène (*par exemple*, le polysorbate 20, le polysorbate 40 ou le polysorbate 60). Dans certains modes de réalisation, un tensioactif dans une formulation de sonde de détection aqueuse est un tensioactif non-linéaire tel que, *par exemple*, un ester d'acide gras de sorbitane de polyoxyéthylène (*par exemple*, le polysorbate 20, le polysorbate 40 ou le polysorbate 60) ou la digitonine. Une formulation aqueuse telle que ci-dessus pour l'amplification ou la détection de l'acide nucléique à GBS peut en outre comprendre un agent gonflant tel que, *par exemple*, le tréhalose, le raffinose ou une combinaison de ceux-ci. Dans certains modes de réalisation, une formulation aqueuse telle que ci-dessus contient un sel inorganique tel que, *par exemple*, le magnésium, le potassium ou le sodium ; dans certaines de ces variations, la concentration du sel inorganique est inférieure ou égale à 4 mM. Un tampon organique particulièrement approprié pour une formulation aqueuse telle que ci-dessus est le Tris (2-amino-2-(hydroxyméthyle)-1,3-propanediol).

[0271] Selon un aspect associé, pour une conservation à long terme, une formulation aqueuse telle que décrite dans la présente invention peut être aliquotée, *par exemple*, dans des flacons, des ampoules ou d'autres récipients, et séchée (*par exemple*, lyophilisée) selon des procédures connues dans le domaine. Le produit séché se présente généralement sous forme de poudre ou de gâteau. Les récipients sont ensuite scellés. Les procédés de préparation de telles formulations séchées à partir de la formulation aqueuse, ainsi que les formulations séchées préparées par ces procédés, sont des aspects supplémentaires de la présente invention. Selon un autre aspect, la présente invention propose une formulation séchée qui permet la reconstitution dans une formulation aqueuse telle que décrite dans la présente invention. Les formulations séchées destinées à l'amplification ou à la détection de l'acide nucléique à GBS contiennent, en plus d'un ou de plusieurs oligomères d'amplification et/ou de sondes de détection telles que décrites dans la présente invention, un agent gonflant tel que, *par exemple*, le tréhalose, le raffinose ou une combinaison de ceux-ci. Dans certains modes de réalisation comprenant en outre un sel inorganique, le pourcentage en masse du sel inorganique par rapport à la masse de la formulation séchée est inférieur ou égal à 0,249 %, inférieur ou égal à 0,222 %, inférieur ou égal à 0,195 %. Les procédés de préparation d'une formulation séchée à partir d'une formulation lyophilisée tels que décrits dans la présente invention sont également englobés par la présente invention ; ces procédés comprennent généralement la dissolution de la formulation séchée dans un diluant approprié (*par exemple*, un tampon organique ou de l'eau) pour fournir une formulation reconstituée.

[0272] La présente invention fournit également un mélange réactionnel destiné à déterminer la présence ou l'absence d'un acide nucléique cible à GBS dans un échantillon. Un mélange réactionnel selon la présente invention comprend l'une ou les deux (1) combinaisons d'oligomères, telles que décrites dans la présente invention, destinées à l'amplification d'un acide nucléique cible *SBS* et/ou *CFB* à GBS et (2) un ou plusieurs oligomères de sonde de détection, tels que décrits dans la présente invention, destinés à la détermination de la présence ou de l'absence d'un produit d'amplification *SIP* et/ou *CFB* à GBS. Le mélange réactionnel peut en outre comprendre un certain nombre de composants facultatifs tels que, *par exemple*, des sondes de capture, *par exemple des* sondes de capture de poly-(k) telles que décrites dans le brevet US 2013/0209992, qui est incorporé dans la présente invention à titre de référence. Pour un mélange réactionnel d'amplification, le mélange réactionnel comprendra typiquement d'autres réactifs appropriés pour effectuer une amplification *in vitro* tels que, *par exemple*, des tampons, des solutions salines, des triphosphates nucléotidiques appropriés (*par exemple*, dATP, dCTP, dGTP et dTTP ; et/ou ATP, CTP, GTP et UTP), et/ou des enzymes (*par exemple*, une ADN polymérase thermostable, ou une transcriptase

inverse et/ou une ARN polymérase), et comprendront typiquement des composants d'échantillon de test, dans lesquels un acide nucléique cible à GBS peut être présent ou non. Un mélange réactionnel peut comprendre des oligomères d'amplification pour une seule région cible d'un génome à GBS, ou peut comprendre des oligomères d'amplification pour plusieurs régions cibles de GBS (*par exemple*, une région cible de *SIP* et une région cible de *CFB*). En outre, pour un mélange réactionnel qui comprend une sonde de détection comportant une combinaison d'oligomères d'amplification, la sélection d'oligomères d'amplification et des oligomères de sonde de détection d'un mélange réactionnel sont reliées par une région cible commune (*par exemple*, le mélange réactionnel comprend une sonde qui se lie à une séquence amplifiable par une combinaison d'oligomères d'amplification du mélange réactionnel). Dans certains modes de réalisation, un mélange réactionnel comprend une formulation aqueuse telle que décrite ci-dessus. Dans certains modes de réalisation, un mélange réactionnel est reconstitué à l'aide de l'eau ou d'un tampon organique à partir d'une formulation séchée telle que décrite ci-dessus.

[0273] La présente invention fournit également des kits pour la mise en œuvre des procédés tels que décrits dans la présente invention. Un kit selon la présente invention comprend l'une ou les deux (1) combinaisons d'oligomères, telles que décrites dans la présente invention, destinées à l'amplification d'un acide nucléique cible *SBS* et/ou *CFB* à GBS et (2) un ou plusieurs oligomères de sonde de détection, tels que décrits dans la présente invention, destinés à la détermination de la présence ou de l'absence d'un produit d'amplification *SIP* et/ou *CFB* à GBS. Dans certains modes de réalisation, toute combinaison d'oligomères décrite dans la présente invention est présente dans le kit. Les kits peuvent en outre comprendre un certain nombre de composants facultatifs tels que, *par exemple*, des sondes de capture, *par exemple des* sondes de capture poly-(k), telles que décrites dans le brevet US 2013/0209992. D'autres réactifs pouvant être présents dans les kits comprennent des réactifs appropriés pour effectuer une amplification *in vitro* tels que, *par exemple*, des tampons, des solutions salines, des triphosphates nucléotidiques appropriés (*par exemple*, dATP, dCTP, dGTP, dTTP ; et/ou ATP, CTP, GTP et UTP) et/ou des enzymes (*par exemple* une ADN polymérase thermostable, ou une transcriptase inverse et/ou une ARN polymérase). Les oligomères tels que décrits dans la présente invention peuvent être emballés dans une variété de modes de réalisation différents, et le spécialiste du domaine comprendra que la description englobe de nombreuses configurations de kits différentes. Par exemple, un kit peut comprendre des oligomères d'amplification pour une seule région cible d'un génome à GBS, ou peut comprendre des oligomères d'amplification pour plusieurs régions cibles de GBS (*par exemple*, une région cible de *SIP* et une région cible de *CFB*). En outre, pour un kit qui comprend une sonde de détection

comportant une combinaison d'oligomères d'amplification, la sélection d'oligomères d'amplification et des oligomères de sonde de détection d'un kit sont reliées par une région cible commune (par *exemple*, le kit comprend une sonde qui se lie à une séquence amplifiable par une combinaison d'oligomères d'amplification du kit). Dans certains modes de réalisation, le kit comprend en outre un ensemble d'instructions pour la mise en œuvre des procédés selon la présente invention, les instructions pouvant être associées à une notice d'emballage et/ou à l'emballage du kit ou de ses composants.

[0274] L'invention est également illustrée par les exemples non exhaustifs suivants.

[0275] **Exemple 1**

[0276] Dix-sept combinaisons d'amorces et de sondes, telles qu'indiquées dans le tableau 2, ont été évaluées pour la détection de *Streptococcus agalactiae* (GBS) *in vitro*.

[0277] **Tableau 2 : combinaisons d'amorces et de sondes**

Combinaison	Amorce avant	Amorce inverse	Sonde
1	S/P avant 2 (SEQ ID N° : 3)	S/P inverse 2 (SEQ ID N° : 4)	Sonde S/P 2 (SEQ ID N° : 9)
2	S/P avant 3 (SEQ ID N° : 5)	S/P inverse 3 (SEQ ID N° : 6)	Sonde S/P 3 (SEQ ID N° : 10)
3	S/P avant 8 (SEQ ID N° : 7)	S/P inverse 8 bis (SEQ ID N° : 8)	Sonde S/P 8 (SEQ ID N° : 11)
4	CFB avant 1 (SEQ ID N° : 12)	CFB inverse 1 (SEQ ID N° : 13)	Sonde CFB 1 (SEQ ID N° : 22)
5	CFB avant 1 (SEQ ID N° : 12)	CFB inverse 1 (SEQ ID N° : 13)	Sonde CFB 1bis (SEQ ID N° : 23)
6	CFB avant 1 (SEQ ID N° : 12)	CFB inverse 2bis (SEQ ID N° : 15)	Sonde CFB 1 (SEQ ID N° : 22)
7	CFB avant 1 (SEQ ID N° : 12)	CFB inverse 2bis (SEQ ID N° : 15)	Sonde CFB 1bis (SEQ ID N° : 23)
8	CFB avant 2 (SEQ ID N° : 14)	CFB inverse 2bis (SEQ ID N° : 15)	Sonde CFB 1 (SEQ ID N° : 22)
9	CFB avant 2 (SEQ ID N° : 14)	CFB inverse 2bis (SEQ ID N° : 15)	Sonde CFB 1bis (SEQ ID N° : 23)
10	CFB avant 2 (SEQ ID N° : 14)	CFB inverse 1 (SEQ ID N° : 13)	Sonde CFB 1 (SEQ ID N° : 22)
11	CFB avant 2 (SEQ ID N° : 14)	CFB inverse 1 (SEQ ID N° : 13)	Sonde CFB 1bis (SEQ ID N° : 23)
12	CFB avant 3 (SEQ ID N° : 16)	CFB inverse 3 (SEQ ID N° : 17)	Sonde CFB 3 (SEQ ID N° : 24)
13	CFB avant 4 (SEQ ID N° : 18)	CFB inverse 1 (SEQ ID N° : 13)	Sonde CFB 1 (SEQ ID N° : 22)
14	CFB avant 4 (SEQ ID N° : 18)	CFB inverse 1 (SEQ ID N° : 13)	Sonde CFB 1bis (SEQ ID N° : 23)
15	CFB avant 4 (SEQ ID N° : 18)	CFB inverse 2bis (SEQ ID N° : 15)	Sonde CFB 1 (SEQ ID N° : 22)
16	CFB avant 4 (SEQ ID N° : 18)	CFB inverse 2bis (SEQ ID N° : 15)	Sonde CFB 1bis (SEQ ID N° : 23)
17	CFB avant 5 (SEQ ID N° : 20)	CFB inverse 5 (SEQ ID N° : 21)	Sonde CFB 5 (SEQ ID N° : 25)

[0278] *Matériels et procédés.* Comme matériau d'entrée, un sérotype non défini de GBS issu d'une culture clinique a été utilisé. Il a été extrait de plusieurs réplicats en à l'aide du système MagNA pur 96 (Roche). Après l'extraction, la concentration d'ADN a été

déterminée par la mesure DO 260/280. Le PCR a été réalisé sur le système Applied Biosystems (ABI)# 7500 FAST Real-Time PCR. Le profil de PCR utilisé était le suivant :

[0279] **Tableau 3 : profil de PCR**

4 minutes	95 °C	
8 secondes	95 °C	45 cycles
25 secondes	60 °C	

[0280] Tous les échantillons ont été testés sans ajout de contrôle interne aux échantillons. Une concentration de l'acide nucléique cible à GBS (1 000 copies/μl dans la PCR) a été utilisée et testée dans quatre réplicats. La concentration des amorces a été fixée à 600 nM et la concentration de la sonde était de 200 nM.

[0281] *Résultats.* Le tableau 4 indique les Ct et le nombre de réactions positives pour les différentes combinaisons d'amorces/de sondes. Le Ct indiqué est le cycle au cours duquel le signal de l'unité fluorescente relative (RFU) dépasse une valeur de seuil de RFU définie.

[0282] **Tableau 4**

Combinaison	Ct (moyenne)	nombre de réactions positives
1	24,81	4/4
2	/	0/4
3	25,66	4/4
4	25,69	4/4
5	27,51	4/4
6	24,72	4/4
7	26,79	3/4
8	24,96	4/4
9	27,62	4/4
10	25,25	4/4
11	27,60	3/4
12	25,50	4/4
13	19,92	3/4
14	27,65	4/4
15	26,03	3/4
16	25,62	4/4
17	24,95	4/4

[0283] Pour chaque gène cible, deux combinaisons d'amorces et de sondes ont été choisies pour une évaluation supplémentaire, sur la base de ces données. Pour *CFB*, les combinaisons 12 et 17 affichaient la valeur la plus basse en combinaison avec la RFU la plus élevée. Pour *SIP*, les combinaisons 1 et 3 ont été choisies. Ces combinaisons ont été testées sur des concentrations plus faibles d'acides nucléiques cibles à GBS permettant une meilleure discrimination. Les résultats indiqués dans le tableau 5 ont été obtenus en testant 1, 10 et 100 copies/μl dans la PCR.

[0284] **Tableau 5**

Combinaison	Ct (moyenne) 1 copie/ μ l	Ct (moyenne) 10 copies/ μ l	Ct (moyenne) 100 copies/ μ l
1	39,19	35,22	31,77
3	37,41	33,61	30,36
12	38,34	35,02	32,41
17	38,44	35,10	31,70

[0285] Les combinaisons 1, 3, 12 et 17 ont également été testées sur 1 et 10 copies/ μ l avec différentes concentrations d'amorces/de sondes (600/200 nM, 400/150 nM et 300/100 nM). Le tableau 6 indique les résultats obtenus avec ces différentes concentrations.

[0286] **Tableau 6**

Combinaison	600/200 nM		400/150 nM		300/100 nM	
	Ct (moyenne)	Ct (moyenne)	Ct (moyenne)	Ct (moyenne)	Ct (moyenne)	Ct (moyenne)
	1 copie/ μ l	10 copies/ μ l	1 copie/ μ l	10 copies/ μ l	1 copie/ μ l	10 copies/ μ l
1	38,51	34,91	40,09	36,26	39,65	36,98
3	36,85	33,73	38,89	34,44	36,84	35,54
12	38,31	35,00	38,89	35,34	39,02	35,68
17	37,10	34,44	38,29	35,13	39,53	35,76

[0287] *Conclusion.* Sur la base des résultats résumés ci-dessus, les combinaisons d'amorces/de sondes 3 et 17 (pour les gènes cibles *SIP* et *CFB*, respectivement) ont été choisies pour une évaluation supplémentaire de la sensibilité et de la spécificité. Ces combinaisons d'amorces ont été capables de détecter cinq (5) copies théoriques par réaction PCR à un Ct de 36 à 37.

[0288] **Exemple 2**

[0289] Pour la détection du contrôle interne, deux combinaisons d'amorces et de sondes ont été évaluées : l'association SD-PLP/GIC et l'association New-GIC comportant les séquences d'amorces et de sondes, telles qu'indiquées dans le tableau 7. La première étape consistait à vérifier quel ensemble d'oligo donnait les meilleurs résultats lors de l'utilisation de Cy5 comme fluorophore et à quelle concentration. La seconde étape s'est concentrée sur le choix de la concentration comportant le colorant QUASAR#705. Sur le système automatisé PANTHER FUSION#, le colorant Cy5 émet des signaux faibles et doit être détecté à l'aide d'un colorant QUASAR705. Le signal du Cy5 étant différent du signal généré par le QUASAR705, la concentration des amorces et des sondes a été réévaluée.

[0290] **Tableau 7 : amorces et sondes de contrôle interne**

Nom	Séquence (5'-3')
SD-PLP-avant	ACAGACAATGGCAGCAATTCACCAG (SEQ ID N° : 29)
SD-PLP-inverse	CTCTTCTTTGTCTCTAATTGACC (SEQ ID N° : 30)
Sonde GIC	AAACATCGCAAGTGCCACAAGCTT (SEQ ID N° : 31)
New-GIC-3_F	TGGTAGCAGTTCATGTAGCCA (SEQ ID N° : 32)
New-GIC-3_R	CTGGCCATCTTCCTGCTAAT (SEQ ID N° : 33)
New-GIC-3_P	TTCTTGCCCTGTTTCTGCTGGA (SEQ ID N° : 34)

- [0291] Le test initial des amorces et des sondes a été effectué sur le système de PCR ABI 7500 FAST Real-Time après l'extraction de# KINGFISHER. Trois concentrations différentes d'amorces/de sondes ont été utilisées : 600/200 nM, 400/150 nM et 300/100 nM. En outre, les oligos IC ont été testés en combinaison avec les oligos *SIP* en présence d'une cible à GBS (sérotypes II et IV : souches obtenues du CHU de Liège). La seconde étape du test de circuit intégré a été réalisée sur le dispositif BioRad CFX-96 qPCR, capable de détecter à la fois le Cy5 et le QUASAR705. Initialement, la combinaison de QUASAR705 a été testée par rapport à la combinaison de Cy5 pour définir la concentration finale des amorces et des sondes.
- [0292] Les données des tests initiaux ont montré que la combinaison New-GIC produisait des signaux plus élevés que la combinaison SD-PLP/GIC. La combinaison New-GIC (300/100nM) a ensuite été testée en présence d'amorces *SIP* (600/200nM) et de différents types de GBS (sérotypes II et IV en dilutions 10^6 , 10^5 , 10^4). Les données provenant de cet essai ont montré qu'il n'y a pas d'impact significatif sur la présence des amorces et des sondes IC sur la détection de GBS. De même, les signaux IC n'étaient pas influencés par la présence d'une concentration plus élevée de GBS. Sur la base des données, la combinaison *SIP* à 600/200 nM (FAM) a été choisie en combinaison avec la combinaison IC New-GIC à 300/100 nM (Cy5).
- [0293] Une comparaison entre le colorant Cy5 et QUASAR705 a été effectuée sur le BioRad CFX-96. Ces données ont montré une bonne conformité entre les deux conditions. La combinaison New-GIC QUASAR705 à 400/150 nM a été utilisée pour des tests supplémentaires sur les souches de GBS.
- [0294] Dans l'expérience suivante, les oligos *SIP* (600/200n M) et New-GIC (400/150nM) ont été testés sur des dilutions en série des différents sérotypes à GBS (cultures cliniques recueillies au Centre hospitalier universitaire de Liège, zone universitaire de Sart Tilman, Bâtiment B 35, B-4000 Liège, Belgique). Le tableau 8 ci-dessous présente les valeurs et montre les écarts-types faibles globaux entre les différents sérotypes et les différentes dilutions pour la cible *SIP* ainsi que pour la cible New-GIC.

- [0295] **Tableau 8**

Souche	Analyse	Dilution 10 ⁶		Dilution 10 ⁵		Dilution 10 ⁴	
		QUASAR70		QUSASR70			
		5	FAM	5	FAM	QUASAR705	FAM
Ia	Moyenne	31,20	37,0 1	28,21	32,5 8	30,12	28,8 6
	Écart type	0,95	1,19	0,20	0,49	1,62	1,28
Ib	Moyenne	30,76	37,7 1	28,39	32,8 9	32,62	30,1 3
	Écart type	0,90	0,85	0,27	0,36	1,02	0,29
II	Moyenne	30,13	37,1 6	28,37	32,5 9	31,09	30,0 3
	Écart type	0,77	0,85	0,30	0,18	0,22	0,27
III	Moyenne	30,05	37,4 5	28,70	33,6 0	30,01	30,1 6
	Écart type	0,92	0,59	0,25	0,36	0,59	1,09

IV	Moyenne	30,00	36,8 4	28,44	33,0 2	29,38	28,9 2
	Écart type	0,62	0,40	0,09	0,18	0,53	1,57
V	Moyenne	30,26	37,3 4	28,86	33,2 6	29,53	29,1 2
	Écart type	0,55	0,03	0,33	0,18	0,44	0,88
VI	Moyenne	29,84	37,8 3	28,51	34,6 3	30,62	32,1 5
	Écart type	0,55	0,52	0,30	0,34	0,47	0,54
VII	Moyenne	30,36	38,0 5	28,41	33,3 8	30,40	30,4 8
	Écart type	0,43	0,36	0,37	0,36	1,35	0,98
VIII	Moyenne	30,82	37,7 7	28,20	32,7 7	29,86	29,4 5
	Écart type	1,02	0,34	0,72	0,55	1,00	1,54
IX	Moyenne	30,77	38,6 9	28,67	35,0 4	29,62	30,6 3
	Écart type	0,44	0,09	0,42	0,30	1,08	1,26
Global	Signifier	30,42	37,5 8	28,48	33,3 8	30,32	29,9 9
	Écart type	0,22	0,36	0,17	0,13	0,45	0,48

[0296] **Exemple 3**

[0297] Cet exemple décrit l'évaluation de la spécificité et de la sensibilité de la combinaison d'amorces/de sondes 3, ciblant le gène *SIP* à GBS.

[0298] Le mélange *SIP* + New-GIC (Cy5) a été utilisé pour tester différents échantillons sur le système ABI 7500 FAST Real-Time PCR après l'extraction du système# KINGFISHER. Le profil de PCR présenté dans le tableau 3 ci-dessus a été utilisé.

[0299] Pour des raisons de spécificité, la réactivité croisée des souches présentées dans le tableau 9 a été évaluée.

[0300] **Tableau 9**

ID de souche	Nom	ATCC#	Format d'échantillon	Concentration de stock
1	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	15309	Lysat	1E+08 UFC/mL
2	<i>Actinomyces israelii</i>	12102	Lysat	1E+08 UFC/mL
3	<i>Alcaligenes faecalis</i> ssp. <i>faecalis</i>	8750	Lysat	1E+08 UFC/mL
4	<i>Atopobium vaginae</i>	BAA-55	Lysat	5E + 11 copies ARNr/mL
5	<i>Bacteroides fragilis</i>	25285	Lysat	5E + 08 CFU/mL
6	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	15703	Lysat	1E + 08 CFU/mL
7	<i>Campylobacter jejuni</i> ssp. <i>jejuni</i>	33560	Lysat	1E + 08 CFU/mL
8	<i>Candida albicans</i>	18804	Lysat	1E + 08 CFU/mL
9	<i>Chlamydia trachomatis</i>	VR-878	Lysat	9,3E + 06 IFU/mL
10	<i>Clostridium difficile</i>	9689	Lysat	1E + 08 CFU/mL
11	<i>Corynebacterium genitalium</i>	33030	Lysat	1E + 08 CFU/mL
12	<i>Cryptococcus neoformans</i>	32045	Lysat	1E + 08 CFU/mL
13	<i>Enterobacter cloacae</i>	13047	Lysat	1E + 08 CFU/mL
14	<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	Lysat	1E + 08 CFU/mL
15	<i>Escherichia coli</i>	11775	Lysat	1E + 08 CFU/mL
16	<i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp. <i>nucleatum</i>	25586	Lysat	1E + 08 CFU/mL
17	<i>Gardnerella vaginalis</i>	14018	Lysat	1E + 08 CFU/mL
18	<i>Haemophilus ducreyi</i>	33940	Lysat	1E + 08 CFU/mL
19	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23357	Lysat	1E + 08 CFU/mL
20	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	4356	Lysat	1E + 08 CFU/mL

ID de souche	Nom	ATCC#	Format d'échantillon	Concentration de stock
21	<i>Lactobacillus crispatus</i>	33820	Lysat	1E + 08 CFU/mL
22	<i>Listeria monocytogenes</i>	15313	Lysat	1E + 08 CFU/mL
23	<i>Mobiluncus curtisii</i>	35241	Lysat	5E + 11 copies ARNr/mL
24	<i>Mycoplasma hominis</i>	23114	Lysat	5E + 11 copies ARNr/mL
25	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	19424	Lysat	1E + 08 CFU/mL
26	<i>Pentatrichomonas hominis</i>	30000	Lysat	2.5E + 07 cellules/ml
27	<i>Peptostreptococcus magnus</i> (<i>Finnegoldia magna</i>)	29328	Lysat	1E + 08 CFU/mL
28	<i>Prevotella bivia</i>	29303	Lysat	1E + 08 CFU/mL
29	<i>Propionibacterium acnes</i>	6919	Lysat	1E + 08 CFU/mL
30	<i>Proteus vulgaris</i>	8427	Lysat	1E + 08 CFU/mL
31	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145	Lysat	1E + 08 CFU/mL
32	<i>Staphylococcus aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	12600	Lysat	1E + 08 CFU/mL
33	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14990	Lysat	1E + 08 CFU/mL
34	<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813	Lysat	5E + 08 CFU/mL
35	<i>Streptococcus pyogenes</i>	12344	Lysat	1E + 08 CFU/mL
36	<i>Trichomonas tenax</i>	30207	Lysat	4.6E + 07 cellules/ml
37	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	27618	Lysat	4.1E + 11 copies ARNr/mL

[0301] Pour des raisons d'inclusivité, les sérotypes à GBS présentés dans le tableau 10 ont été testés.

[0302] **Tableau 10**

ID de souche	Nom	ATCC#	Concentration de stock
38	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype Ia	12400	1E + 08 CFU/ml.
39	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype Ib	BAA-1174	1E + 08 CFU/ml.
40	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype Ic	27591	1E + 08 CFU/ml.
41	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype III	12403	1E + 08 CFU/ml.
42	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype IV	49446	5E + 08 CFU/ml.
43	<i>Streptococcus agalactiae</i> type de couche	13813	5E + 08 CFU/ml.
44	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397	1E + 08 CFU/ml.
45	<i>Streptococcus bovis</i>	33317	1E + 08 CFU/ml.
46	<i>Streptococcus gordonii</i>	33399	1E + 08 CFU/ml.
47	<i>Streptococcus mitis</i>	49456	1E + 08 CFU/ml.
48	<i>Streptococcus mutans</i>	25175	1E + 08 CFU/ml.
49	<i>Streptococcus oralis</i>	10557	1E + 08 CFU/ml.
50	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	15911	1E + 08 CFU/ml.
51	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	33400	1E + 08 CFU/ml.
52	<i>Streptococcus pyogenes</i>	12344	1E + 08 CFU/ml.
53	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype II	12973	1E + 08 CFU/ml.
54	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype V	BAA-611	1E + 08 CFU/ml.
55	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype VI	BAA-2671	1E + 08 CFU/ml.
56	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype VII	BAA-2670	1E + 08 CFU/ml.
57	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype VIII	BAA-2669	1E + 08 CFU/ml.
58	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype IX	BAA-2668	1E + 08 CFU/ml.
59	<i>Streptococcus acidominimus</i>	51725	1E + 08 CFU/ml.

ID de souche	Nom	ATCC#	Concentration de stock
60	<i>Streptococcus canis</i>	43496	1E + 08 CFU/mL
61	<i>Streptococcus cricetus</i>	19642	1E + 08 CFU/mL
62	<i>Streptococcus cristatus</i>	51100	1E + 08 CFU/mL
63	<i>Streptococcus Downei</i>	33748	1E + 08 CFU/mL
64	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	43078	1E + 08 CFU/mL
65	<i>Streptococcus equi</i> ssp. <i>equi</i>	33398	1E + 08 CFU/mL
66	<i>Streptococcus raffii</i>	19645	1E + 08 CFU/mL
67	<i>Streptococcus constellatus</i>	DSM 20575	1E + 08 CFU/mL
68	<i>Streptococcus pseudoporcinus</i>	DSM 18513	1E + 08 CFU/mL

[0303] Tous les sérotypes à GBS à détecter ont été initialement testés à la concentration de stock donnée. Ensuite, les souches ont également été testées à des concentrations plus faibles (aussi faibles que 100 UFC/mL).

[0304] Le tableau 11 ci-dessous montre les données de spécificité obtenues sur le système ABI 7500 FAST. Toutes les bactéries testées n'ont montré aucune interaction avec les amorces et les sondes *SIP*. L'efficacité de la PCR a été évaluée par un contrôle positif, ce qui a donné des signaux positifs.

[0305] **Tableau 11**

Souche	Moyenne de Ct	Écart type	Souche	Moyenne de Ct	Écart type
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	-	-	<i>Propionibacterium acnes</i>	-	-
<i>Actinomyces israelii</i>	-	-	<i>Proteus vulgaris</i>	-	-
<i>Alcaligenes faecalis</i> ssp. <i>faecalis</i>	-	-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-
<i>Atopobium vaginae</i>	-	-	<i>Staphylococcus aureus</i> ssp. <i>aureus</i>	-	-
<i>Bacteroides fragilis</i>	-	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-	-
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	-	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	-
<i>Campylobacter jejuni</i>	-	-	<i>Trichomonas tenax</i>	-	-

Souche	Moyenne de Ct	Ecart type	Souche	Moyenne de Ct	Ecart type
<i>ssp. jejuni</i>					
<i>Candida albicans</i>	-	-	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	-	-
<i>Chlamydia trachomatis</i>	-	-	<i>Streptococcus anogenus</i>	-	-
<i>Clostridium difficile</i>	-	-	<i>Streptococcus bovis</i>	-	-
<i>Corynebacterium genitalium</i>	-	-	<i>Streptococcus gordonii</i>	-	-
<i>Cryptococcus neoformans</i>	-	-	<i>Streptococcus mitis</i>	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	-	<i>Streptococcus mutans</i>	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i>	-	-	<i>Streptococcus oralis</i>	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	-	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	-	-
<i>Eusobacterium nucleatum ssp. nucleatum</i>	-	-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-	-
<i>Gardnerella vaginalis</i>	-	-	<i>Streptococcus pyogenes</i>	-	-
<i>Haemophilus ducreyi</i>	-	-	Contrôle négatif	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	Contrôle positif	31,875	0,318
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	-	-	Contrôle positif	30,840	0,184
<i>Lactobacillus crispatus</i>	-	-			
<i>Listeria monocytogenes</i>	-	-			
<i>Mobiluncus curtisi</i>	-	-			
<i>Mycoplasma hominis</i>	-	-			
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-	-			
<i>Pentatrichomonas hominis</i>	-	-			
<i>Peptostreptococcus magnus (Finegoldia magna)</i>	-	-			
<i>Prevotella bivia</i>	-	-			

[0306] Un ensemble initial testé à des concentrations élevées sur le système ABI 7500 FAST a donné les résultats présentés dans le tableau 12.

[0307] **Tableau 12**

Souche	Moyenne de Ct	Écart type
<i>Streptococcus agalactiae</i> Sérotype Ia	16,705	0,007
<i>Streptococcus agalactiae</i> Sérotype Ib	17,655	0,120
<i>Streptococcus agalactiae</i> Sérotype Ic	17,715	0,332
<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype III	18,240	0,141
<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotype IV	15,740	0,014
<i>Streptococcus agalactiae</i> type de couche	15,550	0,057

[0308] Le tableau 13 ci-dessous montre les données obtenues lorsque les souches de GBS ont été testées à des concentrations plus faibles (100 UFC/ml dans l'échantillon).

[0309] **Tableau 13**

Sérotype	Concentration	Moyenne Ct +/- écart type
Sérotype Ia	100 UFC/ml dans l'échantillon	38,6 +/- 1,9
Sérotype Ib	100 UFC/ml dans l'échantillon	38,1 +/- 1,4
Sérotype Ic	100 UFC/ml dans l'échantillon	37,7 +/- 0,4
Sérotype III	100 UFC/ml dans l'échantillon	37,9 +/- 0,6
Sérotype IV	100 UFC/ml dans l'échantillon	38,1 +/- 1,6

[0310] Ces sérotypes (Ia, Ib, Ic, III, IV) ont ensuite été utilisés pour tester l'efficacité de la PCR. À cet effet, une dilution en série de ces sérotypes a été préparée (allant de 10^6 UFC/ml à 10^1 UFC/ml) et extraite sur le système MagNA Pure 96 (Roche) et une PCR réalisée sur le système ABI 7500 FAST. Les données ont montré la pente attendue à environ -3,3 et une efficacité comprise entre 92 et 98 % entre les différents sérotypes. En outre, les données ont confirmé la détection de tous les sérotypes à 100 UFC/ml dans l'échantillon.

[0311] **Exemple 4**

[0312] Cet exemple décrit l'évaluation de la spécificité de la combinaison d'amorces/de sondes 3, ciblant le gène *SIP* à GBS, sur le système PANTHER FUSION# automatisé.

[0313] Pour évaluer la spécificité, les souches de GBS présentées dans le tableau 15 ci-dessous ont été testées directement sur le système PANTHER FUSION, sans Ajout de STM ni de Lim Broth. Les cartouches utilisées contenaient des oligos *SIP* et des oligos Cy5 pour la détection de circuits intégrés.

[0314] **Tableau 15**

ID de souche	Nom de souche	ATCC#	Format d'échantillon	Concentration
53	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérototype II	12973	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
54	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérototype V	BAA-611	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
55	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérototype VI	BAA-2671	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
56	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérototype VII	BAA-2670	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
57	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérototype VIII	BAA-2669	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
58	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérototype IX	BAA-2668	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
59	<i>Streptococcus acidominimus</i>	51725	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
60	<i>Streptococcus canis</i>	43496	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
61	<i>Streptococcus cricetus</i>	19642	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
62	<i>Streptococcus cristatus</i>	51100	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
63	<i>Streptococcus Downei</i>	33748	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
64	<i>Streptococcus dysagalactiae</i>	43078	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
65	<i>Streptococcus equi</i> subsp <i>equi</i>	33398	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL
66	<i>Streptococcus ratt</i>	19645	Lysat	$1E + 08$ CFU/mL

[0315] Tous les sérotypes à GBS (53 à 58) ont été détectés dans le canal FAM, tandis que les autres souches (59 à 66) étaient négatives et ne fournissaient que des signaux IC dans le canal RED647. Cela a confirmé la spécificité des oligos *IP* pour les souches testées.

[0316] En outre, l'utilisation des mêmes cartouches (*SIP* + IC (Cy5)) et la réalisation de tests sur le système PANTHER FUSION, d'autres bactéries à réactivité croisée potentielles et les sérotypes à GBS restants, tels qu'indiqués dans le tableau 16, ont également été testés.

[0317] **Tableau 16**

ID de souche	Nom de souche	ATCC#	Format d'échantillon	Concentration
1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	15309	Lysat	1E + 08 CFU/mL
2	<i>Actinomyces israelii</i>	12102	Lysat	1E + 08 CFU/mL
3	<i>Alcaligenes faecalis</i> ssp. <i>faecalis</i>	8750	Lysat	1E + 08 CFU/mL
4	<i>Atopobium vaginae</i>	BAA-55	Lysat	5E + 11 copies ARNr/mL
5	<i>Bacteroides fragilis</i>	25285	Lysat	5E + 08 CFU/mL
6	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	15703	Lysat	1E + 08 CFU/mL
7	<i>Campylobacter jejuni</i> ssp. <i>jejuni</i>	33560	Lysat	1E + 08 CFU/mL
8	<i>Candida albicans</i>	18804	Lysat	1E + 08 CFU/mL
9	<i>Chlamydia trachomatis</i>	VR-878	Lysat	9,3E + 06 IFU/mL
10	<i>Clostridium difficile</i>	9689	Lysat	1E + 08 CFU/mL
11	<i>Corynebacterium genitalium</i>	33030	Lysat	1E + 08 CFU/mL
12	<i>Cryptococcus neoformans</i>	32045	Lysat	1E + 08 CFU/mL
13	<i>Enterobacter cloacae</i>	13047	Lysat	1E + 08 CFU/mL
14	<i>Enterococcus faecalis</i>	19433	Lysat	1E + 08 CFU/mL
15	<i>Escherichia coli</i>	11775	Lysat	1E + 08 CFU/mL
16	<i>Eusobacterium nucleatum</i> ssp. <i>nucleatum</i>	25586	Lysat	1E + 08 CFU/mL
17	<i>Gardnerella vaginalis</i>	14018	Lysat	1E + 08 CFU/mL
18	<i>Haemophilus ducreyi</i>	33940	Lysat	1E + 08 CFU/mL
19	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	23357	Lysat	1E + 08 CFU/mL
20	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	4356	Lysat	1E + 08 CFU/mL
21	<i>Lactobacillus crispatus</i>	33820	Lysat	1E + 08 CFU/mL
22	<i>Listeria monocytogenes</i>	15313	Lysat	1E + 08 CFU/mL
23	<i>Mobiluncus curtisi</i>	35241	Lysat	5E + 11 copies ARNr/mL
24	<i>Mycoplasma hominis</i>	23114	Lysat	5E + 11 copies ARNr/mL
25	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	19 424	Lysat	1E + 08 CFU/mL
26	<i>Pentatrichomonas hominis</i>	30 000	Lysat	2,5E + 07 cellules/ml

ID de souche	Nom de souche	ATCC#	Format d'échantillon	Concentration
27	<i>Pentostreptococcus magnus</i> (<i>Finnegoldia magna</i>)	29 328	Lysat	1E + 08 CFU/mL
28	<i>Prevotella bivia</i>	29 303	Lysat	1E + 08 CFU/mL
29	<i>Propionibacterium acnes</i>	6 919	Lysat	1E + 08 CFU/mL
30	<i>Proteus vulgaris</i>	8 427	Lysat	1E + 08 CFU/mL
31	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10 145	Lysat	1E + 08 CFU/mL
32	<i>Staphylococcus aureus</i> ssp. aureus	12 600	Lysat	1E + 08 CFU/mL
33	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	14 990	Lysat	1E + 08 CFU/mL
34	<i>Streptococcus agalactiae</i>	13813	Lysat	5E + 08 CFU/mL
35	<i>Streptococcus pyogenes</i>	12 344	Lysat	1E + 08 CFU/mL
36	<i>Trichomonas tenax</i>	30 207	Lysat	4,6E + 07 cellules/ml
37	<i>Ureaplasma urealyticum</i>	27 618	Lysat	4,1E + 11 copies ARNr/mL
38	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotypé Ia	12 400	Lysat	1E + 08 CFU/mL
39	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotypé Ib	BAA- 1174	Lysat	1E + 08 CFU/mL
40	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotypé Ic	27 591	Lysat	1E + 08 CFU/mL
41	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotypé III	12 403	Lysat	1E + 08 CFU/mL
42	<i>Streptococcus agalactiae</i> sérotypé IV	49 446	Lysat	5E + 08 CFU/mL
43	<i>Streptococcus agalactiae</i> type de couche	13 813	Lysat	5E + 08 CFU/mL
44	<i>Streptococcus anginosus</i>	33 397	Lysat	1E + 08 CFU/mL
45	<i>Streptococcus bovis</i>	33 317	Lysat	1E + 08 CFU/mL
46	<i>Streptococcus gordonii</i>	33 399	Lysat	1E + 08 CFU/mL
47	<i>Streptococcus mitis</i>	49 456	Lysat	1E + 08 CFU/mL
48	<i>Streptococcus mutans</i>	25 175	Lysat	1E + 08 CFU/mL
49	<i>Streptococcus oralis</i>	10 557	Lysat	1E + 08 CFU/mL
50	<i>Streptococcus parasanguinis</i>	15 911	Lysat	1E + 08 CFU/mL

ID de souche	Nom de souche	ATCC#	Format d'échantillon	Concentration
51	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	33 400	Lysat	1E + 08 CFU/mL
52	<i>Streptococcus pyogenes</i>	12 344	Lysat	1E + 08 CFU/mL

[0318] Les souches 38 à 43 ont renvoyé des signaux positifs dans le canal FAM, tandis que les autres souches n'ont renvoyé que des signaux IC dans le canal RED.

[0319] **Exemple 5**

[0320] Les performances de la combinaison d'amorces/de sondes 3, ciblant uniquement le gène *SIP* à GBS, ont été comparées à celles des combinaisons d'amorces/de sondes 3 et 17 (comme réaction multiplex), ciblant les gènes *SIP* et *CFB*, respectivement. Différentes concentrations d'amorces/de sondes à GBS ont été testées sur une souche de GBS enrichie dans un milieu de transport d'échantillon (STM) à 3 000 UFC/PCR, à l'aide du système de PCR ABI 7500 FAST Real-Time après extraction du système KINGFISHER#. Les réactions d'isolement, d'amplification et de détection d'acides nucléiques ont été réalisées généralement telles que décrites ci-dessus. Aucune différence significative de valeurs de Ct n'a été observée entre l'ensemble d'amorces/de sondes *SIP* uniquement et l'ensemble d'amorces/de sondes *SIP/CFB*, alors que le niveau de fluorescence de point final était plus élevé en utilisant l'ensemble d'amorces/de sondes *SIP/CFB* multiplexée par rapport à l'ensemble d'amorces/de sondes *SIP*.

[0321] **Exemple 6**

[0322] Une étude préliminaire a été réalisée pour déterminer la limite de détection (LoD) des combinaisons d'amorces/de sondes *SIP/CFB* multiplexées 3 et 17 sur le sérotype III à GBS (à partir d'ATCC) à l'aide d'une analyse probit (logiciel Minitab® 17).

[0323] Le sérotype de souche à GBS III a été diluée en série dans Lim Broth à huit concentrations (sur la base du placage) : 20 000,0, 10 000,0, 5 000,0, 2 500,0, 1 250,0, 625,0, 312,5 et 156,3 UFC/mL, à partir d'une culture précédente de GBS (solution de stock dans le milieu de transport d'échantillons (STM)).

[0324] Ces huit dilutions ont été ajoutées dans les tubes à échantillon correspondants comme suit : 250,0 µL d'échantillon dans 750,0 µL de solution de transfert (la solution de transfert étant un mélange de STM + Target Capture Oligo (TCO) à 1667 pmol/750 µL STM). En raison de la dilution finale 1:4 dans le tube à échantillon, les concentrations finales étaient de 5 000,0, 2 500,0, 1 250,0, 625,0, 312,5, 156,3, 78,1 et 39,1 UFC/mL.

[0325] Chaque dilution a été testée dans 20 extractions et un réplicat PCR, sur deux essais sur le système PANTHER FUSION#. Un contrôle positif (mélange de plasmides *SIP* et *CFB* à GBS à 141 et 781 c/µL dans STM) et un contrôle négatif (Lim Broth) ont également été testés dans un ou deux réplicats d'extraction et un réplicat PCR, respectivement.

[0326] L'analyse probit a été réalisée sur la base des concentrations testées, du nombre d'appels positifs et du nombre d'essais obtenus par concentration, à l'aide du logiciel Minitab® 17.

[0327] Trois modes de distribution ont été comparés (LogNormal, Weibull et LogLogistic) et celui qui donnait les meilleures valeurs de p, *c'est-à-dire*, près de 0,000 pour le tableau de régression et le plus près de 1,000 pour les tests de qualité d'ajustement, a été choisi, comme résumé dans Tablea 17 ci-dessous. Sur la base de ce tableau, le mode de distribution Weibull a été utilisé pour la détermination de la limite de détection.

[0328] **Tableau 17**

Paramètres	Analyse probit à l'aide du logiciel Minitab® 17		
	LogNormal	Weibull	LogLogistic
Mode de distribution d'analyse probit			
Tableau de régression (valeur P)(devrait être ≈ 0,000)	0,000	0,000	0,000
Tests de qualité d'ajustement			
- Pearson (valeur P) (devrait être ≈ 1,000)	0,975	0,999	0,927
- Déviance (valeur P)(devrait être ≈ 1,000)	0,966	0,999	0,893

[0329] Les résultats obtenus sur le système PANTHER FUSION sont résumés dans le tableau 18 ci-dessous. La dernière dilution a été éliminée de l'analyse statistique.

[0330] **Tableau 18**

UFC/mL	Valeur moyenne de Ct (FAM)	SD	% appels positifs	Valeur moyenne de Ct (Red677)	SD	% appels valides
20 000,0	33,3	0,8	100	31,5	0,4	100
10 000,0	34,1	0,5	100	31,5	0,3	100
5 000,0	34,8	0,7	100	31,6	0,4	100
2 500,0	35,7	1,2	100	31,5	0,4	100
1 250,0	37,6	1,0	95	31,5	0,4	100
625,0	37,6	1,6	65	31,4	0,3	100
312,5	38,9	0,8	40	31,4	0,3	100

[0331] La limite de détection_{95 %} du sérotype à GBS III a été trouvée à 1 294 UFC/mL dans LB, *soit* à 324 UFC/mL dans l'échantillon testé.

[0332] **Exemple 7**

[0333] La sensibilité et inclusivité analytique à l'aide de la combinaison d'amorces/de sondes *SIP* 3 multiplexée avec la combinaison d'amorces/de sondes *CFB* 17 a été évaluée par le test des dilutions en série de lysats cellulaires dans la matrice clinique négative de Lim Broth pour les sérotypes à GBS Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VI, VII, VIII et IX. En outre, une souche non hémolytique (NH) a été évaluée. La limite de détection de 95 % du test de GBS par PANTHER FUSION# pour chaque sérotype a été déterminée à l'aide d'une analyse de régression des probits et les limites de détection prévues ont été confirmées dans les 12 sérotypes à GBS. La réactivité croisée et l'interférence des microorganismes ont été évaluées avec 45 espèces bactériennes ou fongiques, avec et sans la présence du sérotype à GBS III à 3 fois la limite de détection. Une étude comparative des procédés a été réalisée par le test des échantillons enrichis Lim Broth (n = 255) prélevés sur des femmes antepartum subissant un dépistage culture de GBS aux normes de soins dans deux hôpitaux différents. La sensibilité et la spécificité par rapport à la culture ont été déterminées pour le test de GBS PAR PANTHER FUSION. Les échantillons présentant des résultats discordants ont été testés avec le test de GBS par BDMax. Tous les tests ont été réalisés sur le système PANTHER FUSION.

[0334] *Sensibilité et inclusivité analytique.* Les panels ont été créés en ajoutant des stocks de lysat de concentrations d'UFC/mL connues dans la matrice d'enrichissement Lim Broth. Chaque panel a été testé dans des réplicats de 30 avec chacun des trois lots de réactifs de test à l'aide de trois systèmes de PANTHER FUSION. Les limites de détection de 50 % et 95 % ont été estimées pour chaque souche et lot de réactifs par l'analyse Probit (voir le tableau 19 ci-dessous). Les limites de détection sont indiquées dans le tableau 19 en UFC/mL dans l'échantillon de Lim Broth (recalculées à partir de UFC/mL dans l'échantillon de test par PANTHER FUSION, soit des dilutions de 1:4 de Lim Broth dans le milieu de transport d'échantillons (STM)). Un test de confirmation des limites de détection prévues a été réalisé et une positivité d'au moins 95 % a été observée pour tous les sérotypes.

[0335] **Tableau 19**

GBS	Lot de réactifs 1		Lot de réactifs 2		Lot de réactifs 3	
	50 % de limite de détection (95 % de CI) en UFC/mL	95 % de limite de détection (95 % de CI) en UFC/mL	50 % de limite de détection (95 % de CI) en UFC/mL	95 % de limite de détection (95 % de CI) en UFC/mL	50 % de limite de détection (95 % de CI) en UFC/mL	95 % de limite de détection (95 % de CI) en UFC/mL
la	36,50 (28,67 à 44,79)	137,37 (103,68 à 209,68)	26,36 (19,74 à 33,39)	123,33 (89,18 à 202,93)	35,63 (28,67 à 43,02)	109,16 (84,84 à 149,26)
lb	27,67 (20,47 à 35,27)	140,47 (100,59 à 234,73)	28,51 (22,08 à 35,26)	104,35 (78,89 à 158,81)	25,24 (18,81 à 32,05)	116,49 (84,69 à 189,07)
lc	48,16	103,90	36,45	119,52	29,60	136,31

	(40,74 à 55,65)	(85,36 à 143,01)	(29,27 à 44,21)	(91,78 à 177,29)	(22,45 à 37,26)	(99,20 à 220,52)
II	49,95 (40,31 à 60,41)	179,02 (135,06 à 276,19)	37,71 (29,45 à 46,50)	152,98 (113,83 à 239,70)	41,91 (33,35 à 51,08)	154,27 (116,64 à 214,66)
III	42,71 (33,94 à 52,32)	168,00 (125,20 à 261,50)	34,51 (26,60 à 43,19)	162,49 (117,01 à 268,11)	33,28 (26,54 à 40,53)	109,63 (84,15 à 162,56)
IV	26,35 (18,89 à 32,96)	83,97 (63,02 à 130,42)	21,61 (16,66 à 26,88)	72,93 (54,81 à 113,53)	23,38 (18,44 à 28,67)	70,13 (53,84 à 105,00)
V	32,80 (25,70 à 40,38)	122,33 (92,24 à 186,80)	31,85 (25,75 à 38,13)	84,13 (66,53 à 121,30)	28,89 (17,34 à 28,71)	89,18 (65,55 à 138,81)
VI	63,46 (50,73 à 78,03)	281,95 (201,92 à 475,82)	58,34 (44,56 à 69,76)	265,87 (189,40 à 449,57)	49,18 (38,97 à 60,64)	218,19 (157,14 à 351,40)
VII	57,96 (46,30 à 71,06)	250,80 (180,16 à 424,80)	41,29 (32,01 à 51,16)	182,99 (133,94 à 295,79)	29,36 (21,38 à 37,65)	160,87 (113,94 à 275,73)
VIII	44,28 (34,14 à 55,34)	220,54 (157,50 à 370,98)	51,86 (41,06 à 63,93)	231,27 (167,30 à 380,88)	38,63 (29,62 à 48,47)	192,88 (137,94 à 322,17)
IX	46,72 (35,16 à 59,69)	300,99 (202,02 à 567,73)	35,36 (26,76 à 44,70)	186,19 (131,87 à 316,58)	29,29 (21,95 à 37,01)	137,93 (100,34 à 223,89)
NH	63,97 (50,75 à 78,99)	300,17 (211,99 à 522,99)	57,05 (45,71 à 69,43)	227,01 (167,33 à 366,40)	54,15 (43,74 à 65,30)	192,88 (145,53 à 299,61)

[0336] *Réactivité croisée et interférence de microorganismes.* Les espèces bactériennes et fongiques indiquées dans le tableau 20 ci-dessous ont été introduites dans la matrice négative de Lim Broth à une concentration de 1e6 UFC/mL dans l'échantillon de test. Les panneaux ont été testés avec et sans le sérotype III à GBS, à 3 fois la limite de détection estimée. Chaque panel a été testé en triple exemplaire avec un lot de réactifs de test. Aucune réactivité croisée n'a été observée dans les panneaux dépourvus de cible GBS. Aucune interférence n'a été observée dans les panneaux contenant la cible GBS.

[0337] **Tableau 20 : organismes testés**

<i>Acinetobacter (woffii)</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Actinomyces israelii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Streptococcus anginosus</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Streptococcus bovis</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Streptococcus gordonii</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus oralis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus parasanguinis</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Streptococcus acidominimus</i>
<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Streptococcus canis</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus cricetus</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Streptococcus cristatus</i>
<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Streptococcus Downei</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus equi</i>
<i>Peptostreptococcus magnus</i>	<i>Streptococcus rattii</i>
<i>Prevotella bivia</i>	<i>Streptococcus costellatus</i>
<i>Propionibacterium acnes</i>	

[0338] *Comparaison des procédés.* Un total de 255 écouvillons vaginaux-rectaux ont été prélevés chez des femmes avant l'accouchement, conformément aux directives recommandées par le CDC. Chaque échantillon a été enrichi à 35-37 °C pendant 18 à 24 heures dans du milieu Lim Broth. Chaque échantillon a été évalué à l'aide d'une culture de référence et testé dans le test de GBS par PANTHER FUSION. La sensibilité et la spécificité cliniques ont été déterminées en fonction du résultat de la culture de référence. Les résultats sont résumés dans le tableau 21 ci-dessous. La sensibilité et la spécificité du test de GBS par PANTHER FUSION étaient respectivement de 100 % et 98,6 %. Il y avait trois échantillons positifs pour le test de GBS par PANTHER FUSION à culture négative, tous pour lesquels le test de GBS par PANTHER FUSION répété a donné des résultats positifs. Un second procédé de test moléculaire, le BDMax GBSassay, a été utilisé pour analyser les échantillons discordants, et du GBS a été détecté dans les trois échantillons.

[0339] **Tableau 21**

		Culture de référence	
		+	-
Test de GBS par PANTHER FUSION	+	43	3
	-	0	209
Sensibilité (95 % de CI) : 100 % (91,8 à 100)			
Spécificité (IC 95 %) : 98,6 % (95,9 à 99,5)			
Prévalence de culture : 16,9 %			
Prévalence de Fusion Panther : 18,0 %			

[0340] *Conclusions.* Les études analytiques préliminaires ont montré que le test présentait une détection cohérente du GBS parmi les sérotypes évalués, et la comparaison avec les procédés de culture montrait que le test avait une sensibilité et une spécificité élevées.

[0341] **Exemple 8**

[0342] Cet exemple décrit l'évaluation de la spécificité analytique de la combinaison d'amorces/de sondes *SIP 3* multiplexée avec la combinaison d'amorces/de sondes *CFB 17* sur le système automatisé PANTHER FUSION#.

[0343] Un panel de 124 organismes constitués de 104 souches bactériennes, 12 virales, 4 levures/champignons et 4 souches de protozoaires/parasites représentant des microorganismes couramment rencontrés dans la flore vaginale/anale ou appartenant à la même famille/au même genre que le GBS ont été choisis pour des tests de spécificité analytique. Le panneau de spécificité analytique est détaillé dans le tableau 22. Parmi les 124 organismes choisis, 14 n'étaient pas disponibles pour être testés au moment de l'étude. La réactivité croisée potentielle avec les amorces et les sondes du test de GBS pour ces 14 organismes non disponibles a été évaluée par analyse BLAST sans alignement identifié.

[0344] La spécificité analytique a été évaluée à l'aide des deux approches suivantes :

[0345] (1) *Réactivité croisée (exclusivité)* : vérifier si ces organismes réagissent de manière croisée avec les amorces et les sondes du test de GBS et induire un résultat faussement positif dans les échantillons de GBS négatifs confirmés ;

[0346] (2) *Interférence microbienne* : déterminer si ces organismes pourraient interférer avec la détection normale de GBS dans les échantillons positifs au GBS à une concentration proche de la limite de détection.

- [0347] Des pools constitués de cinq (5) microorganismes ont été dilués dans du milieu de transport d'échantillon (STM) à des concentrations élevées (minimum 10^6 UFC/mL pour les bactéries et levures et 10^5 UFP/mL pour le virus ou son équivalent). La composition de la piscine est détaillée dans le tableau 22. Pour l'évaluation de la réactivité croisée (exclusivité), ces groupes de micro-organismes ont été ajoutés à des échantillons cliniques de matrice de Lim Broth négatifs (échantillons de GBS négatifs). Pour l'évaluation des interférences microbiennes, ces groupes de micro-organismes ont été ajoutés à des échantillons cliniques de matrice de Lim Broth négatifs enrichis en sérotype III de GBS à 3 limites de détection (échantillons de GBS positifs).
- [0348] Pour chaque groupe de micro-organismes à évaluer, trois réplicats d'échantillons de GBS positifs et négatifs ont été testés pour le test de GBS par PANTHER FUSION et les données indiquées.
- [0349] Critères d'acceptation :
- [0350] (1) Pour qu'un (groupe de) micro-organisme(s) soit/soient considéré(s) comme ne présentant pas de réactivité croisée, les trois réplicats d'échantillons cliniques de matrice de Lim Broth négatifs (échantillons de GBS négatifs) doivent être déclarés négatifs ;
- [0351] (2) Pour qu'un (groupe de) micro-organisme(s) soit/soient considéré(s) comme non interférant(s), les trois réplicats d'un échantillon positif de GBS de sérotype III (échantillons positifs de GBS) doivent être déclarés positifs.
- [0352] **Tableau 22 : panel de spécificité analytique**

Micro-organisme	Concentration (UFC/mL ou UFP/mL*)	Groupe	Micro-organisme	Concentration (UFC/mL ou UFP/mL*)	Groupe
<i>Bacillus cereus</i>	1×10^6	I	<i>Streptococcus anginosus</i>	1×10^8	XII
<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. <i>enterocolitica</i>	1×10^6		<i>Prevotella oralis</i>	1×10^6	
<i>Anaerococcus prevotii</i>	1×10^6		<i>Streptococcus canis</i>	1×10^8	
<i>Propionibacterium acnes</i>	1×10^8		<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	1×10^8	
<i>Clostridium difficile</i>	1×10^8		<i>Corynebacterium</i> sp. (genitalium)	1×10^8	
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	1×10^8	II	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1×10^8	XIII
<i>Bifidobacterium</i> <i>adolescentis</i> Reuter	1×10^8		<i>Streptococcus</i> <i>pneumoniae</i> (groupe oral)	1×10^8	
<i>Candida albicans</i> (NIH 3147)	1×10^6		<i>Streptococcus mutans</i> (groupe oral)	1×10^8	
<i>Candida glabrata</i> (CBS 138)	1×10^6		<i>Corynebacterium</i> <i>urealyticum</i>	1×10^8	
<i>Candida tropicalis</i>	1×10^6		<i>Lactobacillus reuteri</i>	1×10^8	
<i>Cryptococcus neoformans</i>	$1 \times 10^{5-6}$	III	<i>Lactobacillus</i> sp.	1×10^6	XIV
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1×10^6		<i>Lactobacillus casei</i>	1×10^6	
<i>Proteus mirabilis</i>	1×10^6		<i>Lactobacillus acidophilus</i>	1×10^6	
<i>Alcaligenes faecalis</i>	1×10^6		<i>Streptococcus gordonii</i> (groupe oral)	1×10^6	

[0353] *Résultats de l'étude.* L'analyse était valide et le contrôle interne (IC) ont été détectés dans chaque réaction, ce qui donnait un taux d'analyse invalide et un taux d'invalidité de 0 %, respectivement. Tous les échantillons de GBS négatifs testés pour l'évaluation de la réactivité croisée ont donné des résultats valides et négatifs avec les amorces et les sondes à GBS sur le système PANTHER FUSION, tandis que tous les échantillons de GBS positifs testés pour l'évaluation de l'interférence microbienne ont donné des résultats GBS positifs avec le test de GBS par PANTHER FUSION. Les résultats sont indiqués dans le tableau 23 ci-dessous.

[0354] **Tableau 23 : résultats de la spécificité analytique**

	% d'appel positif/valide (réplicat détecté/réaction valide)			
	Pas de GBS		GBS à 3 limites de détection	
Numéro de groupe	GBS	IC	GBS	IC
Pas de microorganisme enrichi	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
I	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
II	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
III	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
IV	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
V	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
VI	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
VII	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
VIII	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
IX	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
X	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
XI	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
XII	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
XIII	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
XIV	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
XV	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
XVI	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
XVII	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
XVIII	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
XIX	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
XX	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
XXI	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
XXII	0 % (0/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)	100 % (3/3)

[0355] SÉQUENCES

[0356] **Tableau 24 : exemples de séquences d'oligomères, de séquences de référence et de régions**

SEQ ID N° :	Description	Séquence (5'→3')
1	Séquence de référence correspondant au gène <i>SIP</i> à <i>Streptococcus</i> <i>agalactiae</i> (GBS)	ATGAAATGAATAAAAAGGTACTATTGACATCGACAATGG CAGCTTCGCTATTATCAGTCGCAAGTGTTCAAGCACAAGA AACAGATACGACGTGGACAGCACGTACTGTTTCAGAGGT AAAGGCTGATTTGGTAAAGCAAGACAATAAATCATCATAT ACTGTGAAATATGGTGATACACTAAGCGTTATTTCAGAAG CAATGTCAATTGATATGAATGTCTTAGCAAAAATTAATAAC ATTGCAGATATCAATCTTATTTATCCTGAGACAACACTGA CAGTAACTTACGATCAGAAGAGTCACACTGCCACTTCAAT GAAAATAGAAACACCAGCAACAAATGCTGCTGGTCAAAC AACAGCTACTGTGGATTTGAAAACCAATCAAGTTTCTGTT GCAGACCAAAAAGTTTCTCTCAATACAATTTCGGAAGGTA TGACACCAGAAGCAGCACCAACGATTGTTTCGCCAATGA AGACATATTCTTCTGCGCCAGCTTTGAAATCAAAGAAGT ATTAGCACAAGAGCAAGCTGTTAGTCAAGCCGCAGCTAA TGAACAGGTATCACCAGCTCCTGTGAAGTCGATTACTTCA GAAGTTCCAGCAGCTAAAGAGGAAGTTAAACCAACTCAG ACGTCAGTCAGTCAGTCAACAACAGTATCACCAGCTTCTG TTGCCACTGAAACACCAGCTCTAGTAGCTAAAGTAGCAC CGGTAAGAACTGTAGCAGCCCCTAGAGTGACAAGTGCTA AAGTAGTCACTCCTAAAGTAGAACTGGTGCATCACCAGA GCATGTATCAGCTCCAGCAGTTCCTGTGACTACGACTTCA ACAGCTACAGACAATAAGTTACAAGCGACTGAAGTTAAGA GCGTTCCGGTAGCACAAAAGCTCCAACAGCAACACCGG TAGCACAACCAGCTTCAACAACAAATGCAGTAGCTGCAC ATCCTGAAAATGCAGGGGCTCCAACCTCATGTTGCAGCTTA TAAAGAAAAAGTAGCGTCAACTTATGGAGTTAATGAATTC AGTACATACCGTGCGGGAGATCCAGGTGATCATGGTAAA GGTTTAGCAGTTGACTTTATTGTAGGTACCAATCAAGCAC TTGGTAATGAAGTTGCACAGTACTCTACACAAAATATGGC AGCAAATAACATTTTATATGTTATCTGGCAACAAAAGTTTT ACTCAAATACAAATAGTATTTATGGACCTGCTAATACTTG GAATGCAATGCCAGATCGTGGTGGCGTTACTGCCAACCA CTATGACCACGTTTACGTATCATTTAACAATAA

SEQ ID N° :	Description	Séquence (5'→3')
2	Séquence de référence correspondant au gène <i>CFB</i> (facteur cAMP) à <i>Streptococcus agalactiae</i> (GBS)	ATGAACGTTAAACATATGATGTATCTATCTGGAACCTCGAG TGGCTGGTGCATTGTTATTTTCACCAGCTGTATTAGAAGT ACATGCTGATCAAGTGACAACTCCACAAGTGGTAAATCAA GTAAATAGTAATAATCAAGCCCAGCAAATGGCTCAAAGC TTGATCAAGATAGCATTTCAGTTGAGAAATATCAAAGATAA TGTTGAGGGAACAGATTATGAAAAACCGGTTAATGAGGCT ATTACTAGCGTTGAAAAATTAAAGACTTCATTGCGTGCCA ACCCTGAGACAGTTTATGATTTGAATTCATTGGTAGTCG TGTAGAAGCCTTAACAGATGTGATTGAAGCAATCACTTTT TCAACTCAACATTTAACAAATAAGGTTAGTCAAGCAAATAT TGATATGGGATTTGGGATAACTAAGCTAGTTATTGCGATT TTAGATCCATTTGCTTCAGTTGATTCAATTAAAGCTCAAGT TAACGATGTAAAGGCATTAGAACAAAAGGTTTTAACTTAT CCTGATTTAAAACCAACTGATAGAGCTACCATCTACACAA AATCAAACTTGATAAGGAAATTTGGAATACACGTTTTACT AGAGATAAAAAAGTACTTAACGTCAAAGAATTTAAAGTTTA CAATACTTTAAATAAAGCAATCACACATGCTGTTGGAGTT CAGTTGAATCCAAATGTTACGGTACAACAAGTTGATCAAG AGATTGTAACATTACAAGCAGCACTTCAAACAGCATTAA ATAA
3	<i>S/P Forward</i> Primer	CAGTCGCAAGTGTTCAAGC
4	Amorce inverse <i>S/P</i>	AACGCTTAGTGTATCACCATAT
5	Amorce avant <i>S/P</i>	CGGTAAGAACTGTAGCAGCC
6	Amorce inverse <i>S/P</i>	GCTCTTAACCTCAGTCGCTTG
7	Amorce avant <i>S/P</i>	AACAAATGCTGCTGGTCAAA
8	Amorce inverse <i>S/P</i>	AGAATATGTCTTCATTGGCGAA

<u>SEQ ID</u> <u>N° :</u>	<u>Description</u>	<u>Séquence (5'→3')</u>
9	Sonde de détection <i>SIP</i>	ACTGTTTCAGAGGTAAAGGCTGATTTGGTAAAGC
10	Sonde de détection <i>SIP</i>	GCTCCAGCAGTTCCTGTGACTACGACTTC
11	Sonde de détection <i>SIP</i>	CGGAAGGTATGACACCAGAAGCAGCA
12	Amorce avant <i>CFB</i>	GTGGCTGGTGCATTGTTATTT
13	Amorce inverse <i>CFB</i>	CCATTGCTGGGCTTGATTATT
14	Amorce avant <i>CFB</i>	TAGTGGCTGGTGCATTGTT
15	Amorce inverse <i>CFB</i>	CATTGCTGGGCTTGATTATTACT
16	Amorce avant <i>CFB</i>	CTGGAATACACGCTTTACTAGAGATA
17	Amorce inverse <i>CFB</i>	ACTTGTTGTACCGTAACATTTGG
18	Amorce avant <i>CFB</i>	TATCTATCTGGAACTCTAGTGGCT
20	Amorce avant <i>CFB</i>	CAAAGATAATGTTCAAGGAACAGA
21	Amorce inverse <i>CFB</i>	GCTTCTACACGACTACCAATAGA
22	Sonde de détection <i>CFB</i>	ACCACTTGTGGAGTTGTCACCTTGATCAGC
23	Sonde de détection <i>CFB</i>	CAAGTGACAACTCCACAAGTGGTAAATCATGT

<u>SEQ ID</u> <u>N° :</u>	<u>Description</u>	<u>Séquence (5'→3')</u>
24	Sonde de détection CFB	AGCAATCACACATGCTGTTGGAGTTCAGT
25	Sonde de détection CFB	TTGCGTGCCAACCCTGAGACAGTTTA
26	Région d'hybridation d'oligomères CFB	TATCTATCTGGAACCTCTAGTGGCTGGTGCATTGTTATT
27	Région d'hybridation d'oligomères CFB	TAGTGGCTGGTGCATTGTTATT
28	Séquence de noyau d'oligomères CFB	GTGGCTGGTGCATTGTT

[0357] D'après ce qui précède, on se rendra compte que, bien que des modes de réalisation spécifiques de l'invention aient été décrits dans la présente invention à des fins d'illustration, diverses modifications peuvent être apportées sans s'écarter de l'esprit et du cadre de l'invention. En conséquence, l'invention n'est limitée que par les revendications annexées. Toutes les publications, tous les brevets et toutes les demandes de brevets cités dans la présente invention sont incorporés à titre de référence dans leur intégralité à toutes fins utiles.

[0358] L'invention inclut entre autres les modes de réalisation numérotés suivants :

[0359] 1. Composition destinée à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon, ladite composition comprenant :

[0360] une première combinaison d'oligomères d'amplification et/ou une seconde combinaison d'oligomères d'amplification, dans laquelle

[0361] (I) la première combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, dans laquelle les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de

[0362] (a) (A) SEQ ID N° 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

- [0363] (B) SEQ ID N^o : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0364] (b) (A) SEQ ID N^o : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0365] (B) SEQ ID N^o : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0366] (II) la seconde combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, dans laquelle les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies dans le groupe constitué de
 - [0367] (a) (A') une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N^o : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
 - [0368] (B') SEQ ID N^o : 13 ou SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
 - [0369] (b) (A') SEQ ID N^o : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
 - [0370] (B') SEQ ID N^o : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
 - [0371] (c) (A') SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
 - [0372] (B') SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
 - [0373] (d) (A') SEQ ID N^o : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
 - [0374] (B') SEQ ID N^o : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0375] 2. Composition selon le mode de réalisation 1, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a).
- [0376] 3. Composition selon le mode de réalisation 1, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(b).
- [0377] 4. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 1 à 3, dans laquelle, si ladite composition comprend la première combinaison d'oligomères d'amplification,

alors ladite composition comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*.

- [0378] 5. Composition selon le mode de réalisation 4, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0379] 6. Composition selon le mode de réalisation 4, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0380] 7. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 4 à 6, dans laquelle l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable.
- [0381] 8. Composition selon le mode de réalisation 7, dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0382] 9. Composition selon le mode de réalisation 7, dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0383] 10. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 1 à 9, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont la séquence d'hybridation cible de (II)(b).
- [0384] 11. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 1 à 9, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(d).
- [0385] 12. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 1 à 9, dans laquelle les séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(a).
- [0386] 13. Composition selon le mode de réalisation 12, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) comprend au moins la séquence de SEQ ID N° : 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.

- [0387] 14. Composition selon le mode de réalisation 13, dans laquelle la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est présent dans la séquence de SEQ ID N° : 27, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0388] 15. Composition selon le mode de réalisation 14, dans laquelle la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est SEQ ID N° : 12 ou SEQ ID NO : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0389] 16. Composition selon le mode de réalisation 12, dans laquelle la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0390] 17. Composition selon le mode de réalisation 12, dans laquelle les première (A') et seconde (B') séquences de hybridation cibles spécifiques à *CFB* de (II)(a) sont choisies dans le groupe constitué de
- [0391] (i) (A') SEQ ID N° : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0392] (B') SEQ ID N° : 13, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0393] (ii) (A') SEQ ID N° : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0394] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0395] (iii) (A') SEQ ID N° : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0396] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0397] (iv) (A') SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0398] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0399] 18. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 1 à 9, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont la séquence d'hybridation cible de (II)(c).
- [0400] 19. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 1 à 18, dans laquelle si ladite composition comprend la seconde combinaison d'oligomères d'amplification, alors ladite composition comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui

est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*.

- [0401] 20. Composition selon le mode de réalisation 19, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0402] 21. Composition selon le mode de réalisation 19, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0403] 22. Composition selon le mode de réalisation 19, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 22 ou SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0404] 23. Composition selon le mode de réalisation 19, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0405] 24. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 19 à 23, dans laquelle l'oligomère de sonde de détection Spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable.
- [0406] 25. Composition selon le mode de réalisation 24, dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0407] 26. Composition selon le mode de réalisation 24, dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0408] 27. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 1 à 26, dans laquelle ladite composition comprend à la fois les première et seconde combinaisons d'oligomères d'amplification.
- [0409] 28. Composition destinée à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon, ladite composition comprenant :
- [0410] une combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible

d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, dans laquelle les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de

- [0411] (a) (A) SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0412] (B) SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0413] (b) (A) SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0414] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0415] 29. Composition selon le mode de réalisation 28, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (a).
- [0416] 30. Composition selon le mode de réalisation 28, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (b).
- [0417] 31. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 28 à 30, dans laquelle ladite composition comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*.
- [0418] 32. Composition selon le mode de réalisation 31, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0419] 33. Composition selon le mode de réalisation 32, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0420] 34. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 31 à 33, dans laquelle l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un marqueur détectable.

- [0421] 35. Composition selon le mode de réalisation 34, dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0422] 36. Composition selon le mode de réalisation 34, dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0423] 37. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 28 à 36, comprenant en outre une seconde combinaison d'oligomères d'amplification capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS.
- [0424] 38. Composition destinée à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon, ladite composition comprenant :
- [0425] une combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, dans laquelle les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies dans le groupe constitué de
- [0426] (a) (A) une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0427] (B) SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0428] (b) (A) SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0429] (B) SEQ ID N° : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0430] (c) (A) SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0431] (B) SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0432] (d) (A) SEQ ID N° : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0433] (B) SEQ ID N° : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0434] 39. Composition selon le mode de réalisation 38, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont la séquence d'hybridation cible de (b).

- [0435] 40. Composition selon le mode de réalisation 38, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (d).
- [0436] 41. Composition selon le mode de réalisation 38, dans laquelle les séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (a).
- [0437] 42. Composition selon le mode de réalisation 41, dans laquelle la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) comprend au moins la séquence de SEQ ID N^o : 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0438] 43. Composition selon le mode de réalisation 42, dans laquelle la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est présent dans la séquence de SEQ ID N^o : 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0439] 44. Composition selon le mode de réalisation 43, dans laquelle la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est SEQ ID N^o : 12 ou SEQ ID N^o : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0440] 45. Composition selon le mode de réalisation 41, dans laquelle la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0441] 46. Composition selon le mode de réalisation 41, dans laquelle les première (A) et seconde (B) séquences de hybridation cibles spécifiques à *CFB* de (a) sont choisies dans le groupe constitué de
- [0442] (i) (A) SEQ ID N^o : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0443] (B) SEQ ID N^o : 13, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0444] (ii) (A) SEQ ID N^o : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0445] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0446] (iii) (A) SEQ ID N^o : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0447] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0448] (iv) (A) SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0449] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.

- [0450] 47. Composition selon le mode de réalisation 38, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont la séquence d'hybridation cible de (c).
- [0451] 48. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 38 à 47, dans laquelle ladite composition comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*.
- [0452] 49. Composition selon le mode de réalisation 48, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0453] 50. Composition selon le mode de réalisation 48, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0454] 51. Composition selon le mode de réalisation 48, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 22 ou SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0455] 52. Composition selon le mode de réalisation 48, dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0456] 53. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 48 à 52, dans laquelle l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un marqueur détectable.
- [0457] 55. Composition selon le mode de réalisation 53, dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0458] 55. Composition selon le mode de réalisation 53, dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un extincteur non fluorescent.

- [0459] 56. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 38 à 55, comprenant en outre une seconde combinaison d'oligomères d'amplification capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS.
- [0460] 57. Kit destiné à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon, ladite composition comprenant :
- [0461] une première combinaison d'oligomères d'amplification et/ou une seconde combinaison d'oligomères d'amplification, dans laquelle
- [0462] (I) la première combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, dans laquelle les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de
- [0463] (a) (A) SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0464] (B) SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0465] (b) (A) SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0466] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0467] (II) la seconde combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, dans laquelle les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprennent, respectivement, des première (A') et seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies dans le groupe constitué de
- [0468] (a) (A') une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0469] (B') SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0470] (b) (A') SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0471] (B') SEQ ID N° : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;

- [0472] (c) (A') SEQ ID N^o: 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0473] (B') SEQ ID N^o: 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0474] (d) (A') SEQ ID N^o: 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0475] (B') SEQ ID N^o: 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0476] 58. Kit selon le mode de réalisation 57, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a).
- [0477] 59. Kit selon le mode de réalisation 57, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(b).
- [0478] 60. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 57 à 59, dans lequel si le kit comprend la première combinaison d'oligomères d'amplification, alors ledit kit comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*.
- [0479] 61. Kit selon le mode de réalisation 60, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N^o: 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0480] 62. Kit selon le mode de réalisation 60, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N^o: 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0481] 63. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 60 à 62, dans lequel l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable.
- [0482] 64. Kit selon le mode de réalisation 63, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.

- [0483] 65. Kit selon le mode de réalisation 63, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0484] 66. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 57 à 65, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont la séquence d'hybridation cible de (II)(b).
- [0485] 67. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 57 à 65, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquence d'hybridation cibles de (II)(d).
- [0486] 68. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 57 à 65, dans lequel les séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(a).
- [0487] 69. Kit selon le mode de réalisation 68, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) comprend au moins la séquence de SEQ ID N° : 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0488] 70. Kit selon le mode de réalisation 69, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est présent dans la séquence de SEQ ID N° : 27, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0489] 71. Kit selon le mode de réalisation 70, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est SEQ ID N° : 12 ou SEQ ID NO : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0490] 72. Kit selon le mode de réalisation 68, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0491] 73. Kit selon le mode de réalisation 68, dans lequel les première (A') et seconde (B') séquences de hybridation cibles spécifiques à *CFB* de (II)(a) sont choisies dans le groupe constitué de
- [0492] (i) (A') SEQ ID N° : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0493] (B') SEQ ID N° : 13, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0494] (ii) (A') SEQ ID N° : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0495] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0496] (iii) (A') SEQ ID N° : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

- [0497] (B') SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0498] (iv) (A') SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0499] (B') SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0500] 74. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 57 à 65, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont la séquence d'hybridation cible de (II)(c).
- [0501] 75. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 57 à 74, dans lequel si le kit comprend la seconde combinaison d'oligomères d'amplification, alors ledit kit comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*.
- [0502] 76. Kit selon le mode de réalisation 75, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0503] 77. Kit selon le mode de réalisation 75, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0504] 78. Kit selon le mode de réalisation 75, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 22 ou SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0505] 79. Kit selon le mode de réalisation 75, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.

- [0506] 80. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 75 à 79, dans lequel l'oligomère de sonde de détection Spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable.
- [0507] 81. Kit selon le mode de réalisation 80, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0508] 82. Kit selon le mode de réalisation 80, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0509] 83. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 57 à 82, dans lequel ledit kit comprend à la fois les première et seconde combinaisons d'oligomères d'amplification.
- [0510] 84. Kit destiné à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon, ladite composition comprenant :
- [0511] une combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, dans laquelle les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de
- [0512] (a) (A) SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0513] (B) SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0514] (b) (A) SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0515] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0516] 85. Kit selon le mode de réalisation 84, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (a).
- [0517] 86. Kit selon le mode de réalisation 84, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (b).
- [0518] 87. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 84 à 86, dans lequel ledit kit comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider

à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*.

- [0519] 88. Kit selon le mode de réalisation 87, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0520] 89. Kit selon le mode de réalisation 88, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0521] 90. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 87 à 89, dans lequel l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un marqueur détectable.
- [0522] 91. Kit selon le mode de réalisation 90, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0523] 92. Kit selon le mode de réalisation 90, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0524] 93. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 84 à 92, comprenant en outre une seconde combinaison d'oligomères d'amplification capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS.
- [0525] 94. Kit destiné à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon, ladite composition comprenant :
- [0526] une combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, dans laquelle les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies dans le groupe constitué de
 - [0527] (a) (A) une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
 - [0528] (B) SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
 - [0529] (b) (A) SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
 - [0530] (B) SEQ ID N° : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;

- [0531] (c) (A) SEQ ID N^o: 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0532] (B) SEQ ID N^o: 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0533] (d) (A) SEQ ID N^o: 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0534] (B) SEQ ID N^o: 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0535] 95. Kit selon le mode de réalisation 94, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont la séquence d'hybridation cible de (b).
- [0536] 96. Kit selon le mode de réalisation 94, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (d).
- [0537] 97. Kit selon le mode de réalisation 94, dans lequel les séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (a).
- [0538] 98. Kit selon le mode de réalisation 97, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) comprend au moins la séquence de SEQ ID N^o: 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0539] 99. Kit selon le mode de réalisation 98, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est présent dans la séquence de SEQ ID N^o: 27, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0540] 100. Kit selon le mode de réalisation 99, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est SEQ ID N^o: 12 ou SEQ ID N^o: 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0541] 101. Kit selon le mode de réalisation 97, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est SEQ ID N^o: 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0542] 102. Kit selon le mode de réalisation 97, dans lequel les première (A) et seconde (B) séquences de hybridation cibles spécifiques à *CFB* de (a) sont choisies dans le groupe constitué de
- [0543] (i) (A) SEQ ID N^o: 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0544] (B) SEQ ID N^o: 13, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0545] (ii) (A) SEQ ID N^o: 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

- [0546] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0547] (iii) (A) SEQ ID N^o : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0548] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0549] (iv) (A) SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0550] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0551] 103. Kit selon le mode de réalisation 94, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont la séquence d'hybridation cible de (c).
- [0552] 104. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 94 à 103, ledit comprenant en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*.
- [0553] 105. Kit selon le mode de réalisation 104, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0554] 106. Kit selon le mode de réalisation 104, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0555] 107. Kit selon le mode de réalisation 104, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 22 ou SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0556] 108. Kit selon le mode de réalisation 104, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.

- [0557] 109. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 104 à 108, l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un marqueur détectable.
- [0558] 110. Kit selon le mode de réalisation 109, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0559] 111. Kit selon le mode de réalisation 109, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0560] 112. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 94 à 111, comprenant en outre une seconde combinaison d'oligomères d'amplification capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS.
- [0561] 113. Procédé destiné à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon, ledit procédé comprenant :
- [0562] (1) la mise en contact d'un échantillon suspecté de contenir du GBS présentant une première combinaison d'oligomères d'amplification et/ou une seconde combinaison d'oligomères d'amplification, dans lequel
- [0563] (I) la première combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* destinés à amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, dans laquelle les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de
- [0564] (a) (A) SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0565] (B) SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0566] (b) (A) SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0567] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0568] (II) la seconde combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* destinés à amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, dans laquelle les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies dans le groupe constitué de

- [0569] (a) (A') une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0570] (B') SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0571] (b) (A') SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0572] (B') SEQ ID N° : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0573] (c) (A') SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0574] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0575] (d) (A') SEQ ID N° : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0576] (B') SEQ ID N° : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0577] (2) la réalisation d'une réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro*, dans lequel tout acide nucléique cible *SIP* et/ou *CFB* à GBS, s'il est présent dans l'échantillon, est utilisé comme matrice pour générer au moins un amplicon correspondant à la région *SIP* et/ou *CFB* ; et
- [0578] (3) la détection de la présence ou de l'absence de l'au moins un amplicon, déterminant ainsi la présence ou l'absence de GBS dans l'échantillon.
- [0579] 114. Procédé selon le mode de réalisation 113, le procédé comprenant la mise en contact de l'échantillon avec les première et seconde combinaisons d'oligomères d'amplification.
- [0580] 115. Procédé selon le mode de réalisation 114, le procédé étant un procédé multiplex comprenant la mise en contact de l'échantillon avec les première et seconde combinaisons d'oligomères d'amplification dans le même mélange réactionnel.
- [0581] 116. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 113 à 115, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a).
- [0582] 117. Procédé selon le mode de réalisation 113 à 115, les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(b).
- [0583] 118. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 113 à 117, dans lequel si ledit procédé comprend la mise en contact de l'échantillon avec la première

combinaison d'oligomères d'amplification, alors l'étape de détection comprend la mise *en* contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP*, comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*.

- [0584] 119. Procédé selon le mode de réalisation 118, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N^o : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0585] 120. Procédé selon le mode de réalisation 118, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N^o : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0586] 121. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 118 à 120, dans lequel l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable.
- [0587] 122. Procédé selon le mode de réalisation 121, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0588] 123. Procédé selon le mode de réalisation 121, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0589] 124. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 113 à 123, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont la séquence d'hybridation cible de (II)(b).
- [0590] 125. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 113 à 123, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquence d'hybridation cibles de (II)(d).
- [0591] 126. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 113 à 123, dans lequel les séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(a).
- [0592] 127. Procédé selon le mode de réalisation 126, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) comprend au moins la séquence de SEQ ID N^o : 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.

- [0593] 128. Procédé selon le mode de réalisation 127, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est présent dans la séquence de SEQ ID N° : 27, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0594] 129. Procédé selon le mode de réalisation 128, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est SEQ ID N° : 12 ou SEQ ID NO : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0595] 130. Procédé selon le mode de réalisation 126, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (II)(a) est SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0596] 131. Procédé selon le mode de réalisation 126, dans lequel les première (A') et seconde (B') séquences de hybridation cibles spécifiques à *CFB* de (II)(a) sont choisies dans le groupe constitué de
- [0597] (i) (A') SEQ ID N° : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0598] (B') SEQ ID N° : 13, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0599] (ii) (A') SEQ ID N° : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0600] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0601] (c) (A') SEQ ID N° : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0602] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0603] (iv) (A') SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0604] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0605] 132. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 113 à 123, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont la séquence d'hybridation cible de (II)(c).
- [0606] 133. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 113 à 132, dans lequel si ledit procédé comprend la mise en contact de l'échantillon avec la seconde combinaison d'oligomères d'amplification, alors l'étape de détection comprend la mise en contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB*, comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35

nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*.

- [0607] 134. Procédé selon le mode de réalisation 133, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0608] 135. Procédé selon le mode de réalisation 133, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0609] 136. Procédé selon le mode de réalisation 133, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 22 ou SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0610] 137. Procédé selon le mode de réalisation 133, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0611] 138. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 133 à 137, dans lequel l'oligomère de sonde de détection Spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable.
- [0612] 139. Procédé selon le mode de réalisation 138, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0613] 140. Procédé selon le mode de réalisation 138, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0614] 141. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 188 à 120 et 133 à 137, dans lequel l'étape de détection est réalisée en temps réel.
- [0615] 142. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 113 à 141, dans lequel la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* est une réaction d'amplification PCR.

- [0616] 143. Procédé selon le mode de réalisation 114 ou 115, dans lequel l'étape de détection comprend la mise en contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec
- [0617] (i) un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*, et
- [0618] (ii) un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*,
- [0619] dans lequel chacun desdits oligomères de sonde de détection spécifiques à *SIP* et *CFB* comprend un marqueur fluorescent et un extincteur non fluorescent.
- [0620] 144. Procédé selon le mode de réalisation 143, dans lequel la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* est une réaction d'amplification PCR en temps réel.
- [0621] 145. Procédé destiné à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon, ledit procédé comprenant :
- [0622] (1) la mise en contact d'un échantillon suspecté de contenir du GBS avec une combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* destinés à amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, dans lequel les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de
- [0623] (a) (A) SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0624] (B) SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0625] (b) (A) SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0626] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0627] (2) la réalisation d'une réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro*, dans lequel tout acide nucléique cible *SIP* à GBS, s'il est présent dans l'échantillon, est

utilisé comme matrice pour générer au moins un amplicon correspondant à la régions *SIP* ; et

- [0628] (3) la détection de la présence ou de l'absence de l'amplicon, déterminant ainsi la présence ou l'absence de GBS dans l'échantillon.
- [0629] 146. Procédé selon le mode de réalisation 145, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (a).
- [0630] 147. Procédé selon le mode de réalisation 145, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (b).
- [0631] 148. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 145 à 147, dans lequel l'étape de détection comprend la mise *en* contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP*, comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*.
- [0632] 149. Procédé selon le mode de réalisation 148, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0633] 150. Procédé selon le mode de réalisation 148, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0634] 151. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 145 à 150, dans lequel l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un marqueur détectable.
- [0635] 152. Procédé selon le mode de réalisation 151, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0636] 153. Procédé selon le mode de réalisation 151, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0637] 154. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 145 à 150, dans lequel l'étape de détection est réalisée en temps réel.
- [0638] 155. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 145 à 154, dans lequel la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* est une réaction d'amplification PCR.

- [0639] 156. Procédé selon le mode de réalisation 153, dans lequel la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* est une réaction d'amplification PCR en temps réel.
- [0640] 157. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 145 à 156, comprenant en outre la mise en contact de l'échantillon avec une seconde combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* destinés à amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS,
- [0641] dans lequel, à l'étape d'amplification, tout acide nucléique cible *CFB* à GBS, s'il est présent dans l'échantillon, est utilisé comme matrice pour générer un amplicon correspondant à la région cible *CFB*, et dans lequel l'étape de détection comprend la détection de la présence ou de l'absence de l'amplicon correspondant à la région cible *CFB*.
- [0642] 158. Procédé destiné à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon, ledit procédé comprenant :
- [0643] (1) la mise en contact d'un échantillon suspecté de contenir du GBS avec une combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* destinés à amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, dans lequel les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprennent, respectivement, des première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de
- [0644] (a) (A) une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
(B) SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0645] (b) (A) SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
(B) SEQ ID N° : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0646] (c) (A) SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
(B) SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0647] (d) (A) SEQ ID N° : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

- (B) SEQ ID N^o : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0648] (2) la réalisation d'une réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro*, dans lequel tout acide nucléique cible *CFB* à GBS, s'il est présent dans l'échantillon, est utilisé comme matrice pour générer au moins un amplicon correspondant à la régions *CFB* ; et
- [0649] (3) la détection de la présence ou de l'absence de l'amplicon, déterminant ainsi la présence ou l'absence de GBS dans l'échantillon.
- [0650] 159. Procédé selon le mode de réalisation 158, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont la séquence d'hybridation cible de (b).
- [0651] 160. Procédé selon le mode de réalisation 158, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquence d'hybridation cibles de (d).
- [0652] 161. Procédé selon le mode de réalisation 158, dans lequel les séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (a).
- [0653] 162. Procédé selon le mode de réalisation 161, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) comprend au moins la séquence de SEQ ID N^o : 28, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0654] 163. Procédé selon le mode de réalisation 162, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est présent dans la séquence de SEQ ID N^o : 27, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0655] 164. Procédé selon le mode de réalisation 163, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est SEQ ID N^o : 12 ou SEQ ID N^o : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0656] 165. Procédé selon le mode de réalisation 161, dans lequel la première séquence d'hybridation cible spécifique à *CFB* de (a) est SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0657] 166. Procédé selon le mode de réalisation 161, dans lequel les première (A) et seconde (B) séquences de hybridation cibles spécifiques à *CFB* de (a) sont choisies dans le groupe constitué de
- [0658] (i) (A) SEQ ID N^o : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0659] (B) SEQ ID N^o : 13, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0660] (ii) (A) SEQ ID N^o : 12, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

- [0661] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0662] (iii) (A) SEQ ID N^o : 14, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0663] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0664] (iv) (A) SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0665] (B) SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0666] 167. Procédé selon le mode de réalisation 158, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont la séquence d'hybridation cible de (c).
- [0667] 168. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 158 à 167, dans lequel l'étape de détection comprend la mise en contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*.
- [0668] 169. Procédé selon le mode de réalisation 168, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0669] 170. Procédé selon le mode de réalisation 168, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0670] 171. Procédé selon le mode de réalisation 168, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 22 ou SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0671] 172. Procédé selon le mode de réalisation 168, dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.

- [0672] 173. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 168 à 172, dans lequel l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un marqueur détectable.
- [0673] 174. Procédé selon le mode de réalisation 173, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0674] 175. Procédé selon le mode de réalisation 173, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0675] 176. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 168 à 172, dans lequel l'étape de détection est réalisée en temps réel.
- [0676] 177. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 168 à 176, dans lequel la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* est une réaction d'amplification PCR.
- [0677] 178. Procédé selon le mode de réalisation 175, dans lequel la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* est une réaction d'amplification PCR en temps réel.
- [0678] 179. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 168 à 178, comprenant en outre la mise en contact de l'échantillon avec une seconde combinaison d'oligomères d'amplification comprenant des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* destinés à amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS,
- [0679] dans lequel, à l'étape d'amplification, tout acide nucléique cible *SIP* à GBS, s'il est présent dans l'échantillon, est utilisé comme matrice pour générer un amplicon correspondant à la région cible *SIP*, et dans lequel l'étape de détection comprend la détection de la présence ou de l'absence de l'amplicon correspondant à la région cible *SIP*.
- [0680] 180. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 113 à 179, le procédé déterminant la présence ou l'absence d'un des sérotypes à GBS Ia, Ib, Ic, II, III, IV, V, VI, VII., VIII et IX.
- [0681] 181. Procédé selon le mode de réalisation 181, le procédé déterminant en outre la présence ou l'absence d'une souche non hémolytique de GBS.
- [0682] 182. Oligomère de sonde de détection comprenant :
- [0683] une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par une première combinaison d'oligomères d'amplification qui comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à streptocoque du groupe B (GBS), les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprenant respectivement une

première (A) et une seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de

- [0684] (a) (A) SEQ ID N^o : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0685] (B) SEQ ID N^o : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0686] (b) (A) SEQ ID N^o : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0687] (B) SEQ ID N^o : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0688] 183. Oligomère de sonde de détection comprenant :
- [0689] un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par une seconde combinaison d'oligomères d'amplification qui comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à streptocoque du groupe B (GBS), les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprenant respectivement une première (A') et une seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies dans le groupe constitué de
- [0690] (a) (A') une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N^o : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0691] (B') SEQ ID N^o : 13 ou SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0692] (b) (A') SEQ ID N^o : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0693] (B') SEQ ID N^o : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0694] (c) (A') SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0695] (B') SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0696] (d) (A') SEQ ID N^o : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

- [0697] (B') SEQ ID N° : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0698] 184. Oligomère de sonde de détection selon le mode de réalisation 182 ou 183, l'oligomère de sonde de détection comprenant en outre un marqueur détectable.
- [0699] 185. Oligomère de sonde de détection selon le mode de réalisation 184, dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0700] 186. Composition comprenant :
- [0701] (1) un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par une première combinaison d'oligomères d'amplification qui comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à streptocoque du groupe B (GBS), les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprenant respectivement une première (A) et une seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de
- [0702] (a) (A) SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0703] (B) SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0704] (b) (A) SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0705] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0706] et
- [0707] (2) un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par une seconde combinaison d'oligomères d'amplification qui comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à streptocoque du groupe B (GBS), les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprenant respectivement une première (A') et une seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies dans le groupe constitué de

- [0708] (a) (A') une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0709] B') SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0710] (b) (A') SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0711] B') SEQ ID N° : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0712] (c) (A') SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0713] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0714] (d) (A') SEQ ID N° : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0715] (B') SEQ ID N° : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0716] 187. Composition selon le mode de réalisation 186, dans laquelle l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable.
- [0717] 188. Composition selon le mode de réalisation 186 ou 187, dans laquelle l'oligomère de sonde de détection Spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable.
- [0718] 189. Composition selon le mode de réalisation 187 ou 188, dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0719] 190. Formulation aqueuse destinée à l'amplification de l'acide nucléique de streptocoque du groupe B (GBS), la formulation aqueuse comprenant :
- [0720] une composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 1 à 56, et
- [0721] un tampon organique.
- [0722] 191. Formulation aqueuse selon le mode de réalisation 190, comprenant en outre une enzyme ADN polymérase.
- [0723] 192. Formulation aqueuse selon le mode de réalisation 190 ou 191, comprenant en outre une enzyme transcriptase inverse.
- [0724] 193. Formulation aqueuse selon l'un quelconque des modes de réalisation 190 à 192, comprenant en outre un oligomère de sonde de détection.
- [0725] 194. Formulation aqueuse selon l'un quelconque des modes de réalisation 190 à 193, comprenant en outre un agent gonflant choisi dans le groupe constitué par le tréhalose, le raffinose et une combinaison de ceux-ci.

- [0726] 195. Formulation aqueuse selon l'un quelconque des modes de réalisation 190 à 194, la formulation contenant un sel inorganique à une concentration inférieure ou égale à 4 mM.
- [0727] 196. Formulation séchée destinée à l'amplification de l'acide nucléique de streptocoque du groupe B (GBS), la formulation aqueuse comprenant :
- [0728] une composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 1 à 56, et
- [0729] un agent gonflant.
- [0730] 197. Formulation séchée selon le mode de réalisation 196, dans laquelle l'agent gonflant est choisi dans le groupe constitué par le tréhalose, le raffinose et une combinaison de ceux-ci.
- [0731] 198. Formulation séchée selon le mode de réalisation 196 ou 197, comprenant en outre un sel inorganique, dans laquelle la masse pour cent du sel inorganique par rapport à la masse de la formulation séchée est inférieure ou égale à 0,249 %.
- [0732] 199. Formulation séchée selon l'un quelconque des modes de réalisation 196 à 198, comprenant en outre une enzyme ADN polymérase.
- [0733] 200. Formulation séchée selon l'un quelconque des modes de réalisation 196 à 199, comprenant en outre une enzyme transcriptase inverse.
- [0734] 201. Formulation séchée selon l'un quelconque des modes de réalisation 196 à 200, comprenant en outre un oligomère de sonde de détection.
- [0735] 202. Formulation séchée selon l'un quelconque des modes de réalisation 196 à 201, la formulation étant une formulation lyophilisée.
- [0736] 203. Formulation aqueuse destinée à la détection de l'acide nucléique de streptocoque du groupe B (GBS), la formulation aqueuse comprenant :
- [0737] un oligomère de sonde de détection selon l'un quelconque des modes de réalisation 182 à 185 ou une composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 186 à 189, et
- [0738] un tampon organique.
- [0739] 204. Formulation aqueuse selon le mode de réalisation 203, comprenant en outre un tensioactif.
- [0740] 205. Formulation aqueuse selon le mode de réalisation 204, dans laquelle le tensioactif est un tensioactif non linéaire.
- [0741] 206. Formulation aqueuse selon le mode de réalisation 204, dans laquelle le tensioactif est choisi dans le groupe constitué par
- [0742] le polyéthylène glycol mono [4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl) phényl] éther,
- [0743] le polysorbate 20 et
- [0744] une combinaison de ceux-ci.
- [0745] 207. Formulation aqueuse selon l'un quelconque des modes de réalisation 204 à 206, comprenant en outre une enzyme ADN polymérase.

- [0746] 208. Formulation aqueuse selon l'un quelconque des modes de réalisation 204 à 207, comprenant en outre une enzyme transcriptase inverse.
- [0747] 209. Formulation aqueuse selon l'un quelconque des modes de réalisation 204 à 208, comprenant en outre au moins un oligomère d'amplification.
- [0748] 210. Formulation aqueuse selon l'un quelconque des modes de réalisation 204 à 209, comprenant en outre un agent gonflant choisi dans le groupe constitué par le tréhalose, le raffinose et une combinaison de ceux-ci.
- [0749] 211. Formulation aqueuse selon l'un quelconque des modes de réalisation 204 à 210, la formulation contenant un sel inorganique à une concentration inférieure ou égale à 4 mM.
- [0750] 212. Formulation séchée destinée à la détection de l'acide nucléique de streptocoque du groupe B (GBS), la formulation séchée comprenant :
- [0751] un oligomère de sonde de détection selon l'un quelconque des modes de réalisation 182 à 185 ou une composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 186 à 189, et
- [0752] un agent gonflant.
- [0753] 213. Formulation séchée selon le mode de réalisation 212, dans laquelle l'agent gonflant est choisi dans le groupe constitué par le tréhalose, le raffinose et une combinaison de ceux-ci.
- [0754] 214. Formulation séchée selon le mode de réalisation 212 ou 213, comprenant en outre un sel inorganique, dans laquelle la masse pour cent du sel inorganique par rapport à la masse de la formulation séchée est inférieure ou égale à 0,249 %.
- [0755] 215. Formulation séchée selon l'un quelconque des modes de réalisation 212 à 214, comprenant en outre une enzyme ADN polymérase.
- [0756] 216. Formulation séchée selon l'un quelconque des modes de réalisation 212 à 215, comprenant en outre une enzyme transcriptase inverse.
- [0757] 217. Formulation séchée selon l'un quelconque des modes de réalisation 212 à 216, comprenant en outre au moins un oligomère d'amplification.
- [0758] 218. Formulation séchée selon l'un quelconque des modes de réalisation 212 à 217, comprenant en outre un tensioactif.
- [0759] 219. Formulation séchée selon le mode de réalisation 218, dans laquelle le tensioactif est un tensioactif non linéaire.
- [0760] 220. Formulation séchée selon le mode de réalisation 218, dans laquelle le tensioactif est choisi dans le groupe constitué par
- [0761] le polyéthylène glycol mono [4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl) phényle] éther,
- [0762] le polysorbate 20 et
- [0763] une combinaison de ceux-ci.

- [0764] 221. Formulation sèche selon l'un quelconque des modes de réalisation 212 à 220, la formulation étant une formulation lyophilisée.
- [0765] 222. Mélange réactionnel destiné à l'amplification de l'acide nucléique à streptocoque du groupe B (GBS), le mélange réactionnel comprenant une formulation aqueuse selon l'un quelconque des modes de réalisation 190 à 195.
- [0766] 223. Mélange réactionnel destiné à l'amplification de l'acide nucléique à streptocoque du groupe B (GBS), le mélange réactionnel étant reconstitué à l'aide de l'eau ou d'un tampon organique à partir d'une formulation séchée selon l'un quelconque des modes de réalisation 196 à 202.
- [0767] 224. Mélange réactionnel selon le mode de réalisation 223, dans lequel le mélange réactionnel contient un sel inorganique.
- [0768] 225. Mélange réactionnel selon le mode de réalisation 224, dans lequel le sel inorganique est choisi dans le groupe constitué par le magnésium, le potassium et le sodium.
- [0769] 226. Mélange réactionnel selon le mode de réalisation 224 ou 225, dans lequel la concentration du sel inorganique est inférieure ou égale à 4 mM.
- [0770] 227. Mélange réactionnel destiné à la détection de l'acide nucléique à streptocoque du groupe B (GBS), le mélange réactionnel comprenant une formulation aqueuse selon l'un quelconque des modes de réalisation 203 à 211.
- [0771] 228. Mélange réactionnel destiné à la détection de l'acide nucléique à streptocoque du groupe B (GBS), le mélange réactionnel étant reconstitué à l'aide de l'eau ou d'un tampon organique à partir d'une formulation séchée selon l'un quelconque des modes de réalisation 212 à 221.
- [0772] 229. Mélange réactionnel selon le mode de réalisation 228, dans lequel le mélange réactionnel contient un sel inorganique.
- [0773] 230. Mélange réactionnel selon le mode de réalisation 229, dans lequel le sel inorganique est choisi dans le groupe constitué par le magnésium, le potassium et le sodium.
- [0774] 231. Mélange réactionnel selon le mode de réalisation 229 ou 230, dans lequel la concentration du sel inorganique est inférieure ou égale à 4 mM.
- [0775] 232. Composition destinée à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon, ladite composition comprenant :
- [0776] une première combinaison d'oligomères d'amplification et/ou une seconde combinaison d'oligomères d'amplification, dans laquelle
- [0777] (I) la première combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à GBS, dans laquelle les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprennent, respectivement, des

première (A) et seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de

- [0778] (a) (A) SEQ ID N^o : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0779] (B) SEQ ID N^o : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0780] (b) (A) SEQ ID N^o : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0781] (B) SEQ ID N^o : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0782] (II) la seconde combinaison d'oligomères d'amplification comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à GBS, dans laquelle les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprennent, respectivement, des première (A') et seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies dans le groupe constitué de
- [0783] (a) (A') une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N^o : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0784] (B') SEQ ID N^o : 13 ou SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0785] (b) (A') SEQ ID N^o : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0786] (B') SEQ ID N^o : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0787] (c) (A') SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0788] (B') SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0789] (d) (A') SEQ ID N^o : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0790] (B') SEQ ID N^o : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci.
- [0791] 233. Composition selon le mode de réalisation 232, dans laquelle, si ladite composition comprend la première combinaison d'oligomères d'amplification, alors ladite composition comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique

à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*,

[0792] éventuellement dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N^o : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, ou dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N^o : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci

[0793] éventuellement dans laquelle l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable, dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent, ou dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent.

[0794] 234. Composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 232 ou 233, dans laquelle si ladite composition comprend la seconde combinaison d'oligomères d'amplification, alors ladite composition comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*,

[0795] éventuellement dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, ou dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, ou dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (I) (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 22 ou SEQ ID N^o : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, ou dans laquelle les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(c) et la séquence

- d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci,
- [0796] éventuellement dans laquelle l'oligomère de sonde de détection Spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable, dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent, ou dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0797] 235. Oligomère de sonde de détection comprenant :
- [0798] une sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par une première combinaison d'oligomères d'amplification qui comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à streptocoque du groupe B (GBS), les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprenant respectivement une première (A) et une seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de
- [0799] (a) (A) SEQ ID N° : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0800] (B) SEQ ID N° : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0801] (b) (A) SEQ ID N° : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0802] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ou
- [0803] un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par une seconde combinaison d'oligomères d'amplification qui comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à streptocoque du groupe B (GBS), les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprenant respectivement une première (A') et une seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies dans le groupe constitué de

- [0804] (a) (A') une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N^o : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0805] (B') SEQ ID N^o : 13 ou SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0806] (b) (A') SEQ ID N^o : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0807] (B') SEQ ID N^o : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0808] (c) (A') SEQ ID N^o : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0809] (B') SEQ ID N^o : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0810] (d) (A') SEQ ID N^o : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0811] (B') SEQ ID N^o : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0812] dans lequel l'oligomère de sonde de détection comprenant en outre un marqueur détectable, éventuellement dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.
- [0813] 236. Composition comprenant :
- [0814] (1) un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par une première combinaison d'oligomères d'amplification qui comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *SIP* à streptocoque du groupe B (GBS), les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP* comprenant respectivement une première (A) et une seconde (B) séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* choisies dans le groupe constitué de
- [0815] (a) (A) SEQ ID N^o : 3, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0816] (B) SEQ ID N^o : 4, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0817] (b) (A) SEQ ID N^o : 7, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et

- [0818] (B) SEQ ID N° : 8, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0819] et
- [0820] (2) un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par une seconde combinaison d'oligomères d'amplification qui comprend des premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* capables d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible *CFB* à streptocoque du groupe B (GBS), les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB* comprenant respectivement une première (A') et une seconde (B') séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* choisies dans le groupe constitué de
- [0821] (a) (A') une séquence qui est d'environ 17 à environ 24 nucléotides contigus présents dans la séquence de SEQ ID N° : 26, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0822] (B') SEQ ID N° : 13 ou SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0823] (b) (A') SEQ ID N° : 16, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, e
- [0824] (B') SEQ ID N° : 17, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0825] (c) (A') SEQ ID N° : 18, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0826] (B') SEQ ID N° : 15, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ; et
- [0827] (d) (A') SEQ ID N° : 20, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, et
- [0828] (B') SEQ ID N° : 21, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci ;
- [0829] dans laquelle l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable, éventuellement dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent, et/ou dans laquelle l'oligomère de sonde de détection Spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable, éventuellement dans laquelle le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent.

- [0830] 237. Kit destiné à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon, ledit kit comprenant :
- [0831] une première combinaison d'oligomères d'amplification et/ou une seconde combinaison d'oligomères d'amplification selon l'un quelconque des modes de réalisation 232 à 234.
- [0832] 238. Kit selon le mode de réalisation 237, dans lequel si le kit comprend la première combinaison d'oligomères d'amplification, alors ledit kit comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*,
- [0833] éventuellement dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N^o : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, ou dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N^o : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci,
- [0834] éventuellement dans lequel l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable, éventuellement dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent, ou dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent.
- [0835] 239. Kit selon l'un quelconque des modes de réalisation 237 et 238, dans lequel si le kit comprend la seconde combinaison d'oligomères d'amplification, alors ledit kit comprend en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*,
- [0836] éventuellement dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N^o : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, ou dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les

séquences d'hybridation cibles de (II)(d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, ou dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (I) (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 22 ou SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, ou dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci,

[0837] éventuellement dans lequel l'oligomère de sonde de détection Spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable, éventuellement dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent, ou dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection comprend en outre un extincteur non fluorescent.

[0838] 240. Procédé destiné à déterminer la présence ou l'absence de streptocoques de groupe B (GBS) dans un échantillon, ledit procédé comprenant :

[0839] (1) la mise en contact d'un échantillon suspecté de contenir du GBS présentant une première combinaison d'oligomères d'amplification et/ou une seconde combinaison d'oligomères d'amplification selon l'un quelconque des modes de réalisation 232 à 235,

[0840] (2) la réalisation d'une réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro*, dans lequel tout acide nucléique cible *SIP* et/ou *CFB* à GBS, s'il est présent dans l'échantillon, est utilisé comme matrice pour générer au moins un amplicon correspondant à la région *SIP* et/ou *CFB* ; et

[0841] (3) la détection de la présence ou de l'absence de l'au moins un amplicon, déterminant ainsi la présence ou l'absence de GBS dans l'échantillon.

[0842] 241. Procédé selon le mode de réalisation 240, dans lequel si ledit procédé comprend la mise en contact de l'échantillon avec la première combinaison d'oligomères d'amplification, alors l'étape de détection comprend la mise *en* contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec un oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP*, comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *SIP* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *SIP*,

[0843] éventuellement dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(a) et la séquence

d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 9, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, ou dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *SIP* sont les séquences d'hybridation cibles de (I)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *SIP* est SEQ ID N° : 11, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci,

[0844] éventuellement dans lequel l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un marqueur détectable, éventuellement dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent, ou dans lequel le marqueur détectable est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *SIP* comprend en outre un extincteur non fluorescent.

[0845] 242. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 240 et 241, dans lequel si ledit procédé comprend la mise en contact de l'échantillon avec la seconde combinaison d'oligomères d'amplification, alors l'étape de détection comprend la mise en contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec un oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB*, comprenant une séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible présente dans un amplicon *CFB* amplifiable par les premier et second oligomères d'amplification spécifiques à *CFB*,

[0846] éventuellement dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(b) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 24, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, ou dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(d) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 25, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, ou dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (I) (a) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 22 ou SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci, ou dans lequel les première et seconde séquences d'hybridation cibles spécifiques à *CFB* sont les séquences d'hybridation cibles de (II)(c) et la séquence d'hybridation cible de sonde de détection spécifique à *CFB* est SEQ ID N° : 23, ou un équivalent d'ARN ou une chimère d'ADN/ARN de celui-ci;

[0847] éventuellement dans lequel l'oligomère de sonde de détection Spécifique à *CFB* comprend en outre un marqueur détectable, éventuellement dans lequel le marqueur

déTECTABLE est un marqueur fluorescent ou chimioluminescent, ou dans lequel le marqueur détECTABLE est un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à *CFB* comprend en outre un extincteur non fluorescent.

[0848] 243. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 240 à 242, dans lequel l'étape de détection est réalisée en temps réel.

[0849] 244. Procédé selon l'un quelconque des modes de réalisation 240 à 243, dans lequel la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* est une réaction d'amplification PCR.

[0850] 245. Formulation aqueuse destinée à l'amplification de l'acide nucléique de streptocoque du groupe B (GBS), dans laquelle la formulation aqueuse comprend :

[0851] une composition selon l'un quelconque des modes de réalisation 232 à 234, et

[0852] un tampon organique,

[0853] éventuellement la formulation aqueuse comprenant en outre une enzyme ADN polymérase, et/ou une enzyme transcriptase inverse, et/ou un oligomère de sonde de détection, et/ou un agent gonflant choisi dans le groupe constitué par le tréhalose, le raffinose et une combinaison de ceux-ci.

[0854] 246. Formulation aqueuse selon le mode de réalisation 245, dans laquelle la formulation contient un sel inorganique à une concentration inférieure ou égale à 4 mM.

[0855] 247. Formulation séchée destinée à l'amplification de l'acide nucléique de streptocoque du groupe B (GBS), dans laquelle la formulation séchée est une formulation lyophilisée de la formulation aqueuse selon les modes de réalisation 245 ou 246.

[0856] 248. Formulation aqueuse destinée à la détection de l'acide nucléique de streptocoque du groupe B (GBS), dans laquelle la formulation aqueuse comprend :

[0857] un oligomère de sonde de détection selon l'un quelconque des modes de réalisation 235 ou 236 et

[0858] un tampon organique,

[0859] éventuellement comprenant en outre un tensioactif, de préférence un tensioactif non linéaire, ou un tensioactif choisi dans le groupe constitué par

[0860] le polyéthylène glycol mono [4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl) phényl] éther,

[0861] le polysorbate 20 et

[0862] une combinaison de ceux-ci, et/ou une enzyme ADN polymérase, et/ou une enzyme transcriptase inverse, ou au moins un oligomère d'amplification, et/ou un agent gonflant choisi dans le groupe constitué par le tréhalose, le raffinose et une combinaison de ceux-ci.

- [0863] 249. Formulation aqueuse selon le mode de réalisation 248, dans laquelle la formulation contient un sel inorganique à une concentration inférieure ou égale à 4 mM.
- [0864] 250. Formulation séchée destinée à la détection de l'acide nucléique de streptocoque du groupe B (GBS), dans laquelle la formulation séchée est une formulation lyophilisée de la formulation aqueuse du mode de réalisation 248 ou 249.
- [0865] 251. Mélange réactionnel destiné à l'amplification de l'acide nucléique à streptocoque du groupe B (GBS), dans lequel le mélange réactionnel est reconstitué à l'aide de l'eau ou d'un tampon organique à partir d'une formulation séchée selon le mode de réalisation 247.
- [0866] 252. Mélange réactionnel selon le mode de réalisation 251, dans lequel le mélange réactionnel contient un sel inorganique, de préférence un sel inorganique choisi dans le groupe constitué par le magnésium, le potassium et le sodium, dans lequel la concentration du sel inorganique est inférieure ou égale à 4 mM.
- [0867] 253. Mélange réactionnel destiné à la détection de l'acide nucléique à streptocoque du groupe B (GBS), dans lequel le mélange réactionnel est reconstitué à l'aide de l'eau ou d'un tampon organique à partir d'une formulation séchée selon le mode de réalisation 250.
- [0868] 254. Mélange réactionnel selon le mode de réalisation 253, dans lequel le mélange réactionnel contient un sel inorganique, de préférence un sel inorganique choisi dans le groupe constitué par le magnésium, le potassium et le sodium, dans lequel la concentration du sel inorganique est inférieure ou égale à 4 mM.

Revendications

[Revendication 1]

Composition pour déterminer la présence ou l'absence de streptocoques du groupe B (GBS) dans un échantillon, ladite composition comprenant :

(A) une première combinaison d'oligomères d'amplification SIP capable d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible SIP GBS, la première combinaison d'oligomères d'amplification SIP comprenant :

(i) un premier oligomère d'amplification spécifique à SIP comprenant une séquence d'hybridation cible consistant en la séquence d'acide nucléique de SEQ ID NO : 3, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; et

(ii) un deuxième oligomère d'amplification spécifique à SIP comprenant une séquence d'hybridation cible consistant en la séquence d'acide nucléique de SEQ ID NO : 4, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; ou

(B) une deuxième combinaison d'oligomères d'amplification SIP capable d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible SIP GBS, la deuxième combinaison d'oligomères d'amplification SIP comprenant :

(i) un premier oligomère d'amplification spécifique à SIP comprenant une séquence d'hybridation cible consistant en la séquence d'acide nucléique de SEQ ID NO : 7, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; et

(ii) un deuxième oligomère d'amplification spécifique à SIP comprenant une séquence d'hybridation cible consistant en la séquence d'acide nucléique de SEQ ID NO : 8, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci.

[Revendication 2]

Composition selon la revendication 1, ladite composition comprenant en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à SIP comprenant une séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à SIP qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et est configurée pour s'hybrider à une séquence cible contenue dans un amplicon SIP amplifiable par le premier et le deuxième oligomère d'amplification spécifique à SIP, l'oligomère de sonde de détection spécifique à SIP comprenant en outre un marqueur détectable, le marqueur détectable étant

un marqueur fluorescent ou chimioluminescent, ou le marqueur détectable étant un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à SIP comprenant en outre un agent d'extinction non fluorescent.

[Revendication 3]

Composition selon la revendication 2 :

(a) la composition comprenant la première combinaison d'oligomères d'amplification SIP et la séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à SIP étant SEQ ID NO : 9, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; ou

(b) la composition comprenant la deuxième combinaison d'oligomères d'amplification SIP et la séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à SIP étant SEQ ID NO : 11, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci.

[Revendication 4]

Combinaison selon la revendication 1, la combinaison comprenant en outre une combinaison d'oligomères d'amplification CFB capable d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible CFB GBS, la combinaison d'oligomères d'amplification CFB comprenant :

(C) une première combinaison d'oligomères d'amplification CFB capable d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible CFB GBS, la première combinaison d'oligomères d'amplification CFB comprenant :

(i) un premier oligomère d'amplification spécifique à CFB comprenant une séquence d'hybridation cible consistant en la séquence d'acide nucléique de SEQ ID NO : 16, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; et

(ii) un deuxième oligomère d'amplification spécifique à CFB comprenant une séquence d'hybridation cible consistant en la séquence d'acide nucléique de SEQ ID NO : 17, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; ou

(D) une deuxième combinaison d'oligomères d'amplification CFB capable d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible CFB GBS, la deuxième combinaison d'oligomères d'amplification CFB comprenant :

(i) un premier oligomère d'amplification spécifique à CFB comprenant une séquence d'hybridation cible consistant en la séquence d'acide nucléique de SEQ ID NO : 18, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; et

- (ii) un deuxième oligomère d'amplification spécifique à CFB comprenant une séquence d'hybridation cible consistant en la séquence d'acide nucléique de SEQ ID NO : 15, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; ou
- (E) une troisième combinaison d'oligomères d'amplification CFB capable d'amplifier une région cible d'un acide nucléique cible CFB GBS, la troisième combinaison d'oligomères d'amplification CFB comprenant :
 - (i) un premier oligomère d'amplification spécifique à CFB comprenant une séquence d'hybridation cible consistant en la séquence d'acide nucléique de SEQ ID NO : 20, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; et
 - (ii) un deuxième oligomère d'amplification spécifique à CFB comprenant une séquence d'hybridation cible consistant en la séquence d'acide nucléique de SEQ ID NO : 21, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; ou

[Revendication 5]

Composition selon la revendication 4, comprenant en outre un oligomère de sonde de détection spécifique à CFB comprenant une séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à CFB qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et qui est configurée pour s'hybrider à une séquence cible contenue dans un amplicon CFB amplifiable par le premier et le deuxième oligomère d'amplification spécifique à CFB ;
 l'oligomère de sonde de détection spécifique à CFB comprenant en outre un marqueur détectable, le marqueur détectable étant un marqueur fluorescent ou chimioluminescent, ou le marqueur détectable étant un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à CFB comprenant en outre un agent d'extinction non fluorescent.

[Revendication 6]

Composition selon la revendication 5 :

- (c) si la composition comprend la première combinaison d'oligomères d'amplification CFB, alors la séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à CFB est SEQ ID NO : 24, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ;
- (d) si la composition comprend la deuxième combinaison d'oligomères d'amplification CFB, alors la séquence d'hybridation de cible de la sonde de détection spécifique à CFB est SEQ ID NO : 22

ou 23, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de ceux-ci ; et

(E) si la composition comprend la troisième combinaison d'oligomères d'amplification CFB, alors la séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à CFB est SEQ ID NO : 25, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci.

[Revendication 7]

Kit pour déterminer la présence ou l'absence de streptocoques du groupe B (GBS) dans un échantillon, ledit kit comprenant
(a) la combinaison d'oligomères d'amplification SIP de la revendication 1 et l'oligomère de sonde de détection spécifique à SIP de la revendication 2 ou 3 ; ou

(b) la combinaison d'oligomères d'amplification SIP selon la revendication 1, la combinaison d'oligomères d'amplification CFP selon la revendication 4, l'oligomère de sonde de détection spécifique à SIP selon la revendication 2 ou 3, et l'oligomère de sonde de détection spécifique à CFB selon la revendication 5 ou 6.

[Revendication 8]

Procédé pour déterminer la présence ou l'absence de streptocoques du groupe B (GBS) dans un échantillon, ledit procédé comprenant :
(1) la mise en contact d'un échantillon suspecté de contenir GBS avec la composition selon l'une quelconque des revendications 1-3 ou le kit selon la revendication 7,

(2) la réalisation d'une réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro*, un quelconque acide nucléique cible SIP GBS, s'il est présent dans l'échantillon, étant utilisé comme une matrice pour générer un amplicon correspondant à la région cible SIP ; et

(3) la détection de la présence ou l'absence de l'amplicon, déterminant ainsi la présence ou l'absence de GBS dans l'échantillon.

[Revendication 9]

Procédé selon la revendication 5, l'étape de détection comprenant la mise en contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec un oligomère de sonde de détection spécifique à SIP comprenant une séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à SIP qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et est configurée pour s'hybrider à une séquence cible contenue dans un SIP amplicon amplifiable par le premier et le deuxième oligomère d'amplification spécifique à SIP, l'oligomère de sonde de détection spécifique à SIP comprenant en outre un marqueur détectable, le marqueur détectable étant un marqueur fluorescent ou chimioluminescent, ou le marqueur

déTECTABLE étant un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à SIP comprenant en outre un agent d'extinction non fluorescent.

[Revendication 10]

Procédé selon la revendication 9 :

(a) si la composition comprend la première combinaison d'oligomères d'amplification SIP, alors la séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à SIP étant SEQ ID NO : 9, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; ou

(b) si la composition comprend la deuxième combinaison d'oligomères d'amplification SIP, alors la séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à SIP étant SEQ ID NO : 11, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci.

[Revendication 11]

Procédé pour déterminer la présence ou l'absence de streptocoques du groupe B (GBS) dans un échantillon, ledit procédé comprenant :

(1) la mise en contact d'un échantillon suspecté de contenir GBS avec la composition selon l'une quelconque des revendications 5-6 ou le kit selon la revendication 7,

(2) la réalisation d'une réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro*, un quelconque acide nucléique cible SIP GBS et un quelconque acide nucléique cible CFB, s'ils sont présents dans l'échantillon, étant utilisés comme matrice pour générer un amplicon SIP correspondant à la région cible SIP et un amplicon CFB correspondant à la région cible CFP ; et

(3) la détection de la présence ou l'absence de l'amplicon, déterminant ainsi la présence ou l'absence de GBS dans l'échantillon.

[Revendication 12]

Procédé selon la revendication 11, l'étape de détection comprenant la mise en contact de la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* avec

(a) un oligomère de sonde de détection spécifique à SIP comprenant une séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à SIP qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et est configuré pour s'hybrider à une séquence cible contenue dans un amplicon SIP amplifiable par le premier et le deuxième oligomères d'amplification spécifiques à SIP ; et

(b) un oligomère de sonde de détection spécifique à CFB comprenant une séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à CFB qui a une longueur d'environ 15 à environ 35 nucléotides et est configuré pour s'hybrider à une séquence cible contenue dans un

amplicon CFB amplifiable par le premier et le deuxième oligomère d'amplification spécifique à CFB ;

l'oligomère de sonde de détection spécifique à SIP et/ou l'oligomère de sonde de détection spécifique à CFB comprenant en outre un marqueur détectable, le marqueur détectable étant un marqueur fluorescent ou chimioluminescent, ou le marqueur détectable étant un marqueur fluorescent et l'oligomère de sonde de détection spécifique à SIP et/ou l'oligomère de sonde de détection spécifique à CFB comprenant en outre un agent d'extinction non fluorescent.

[Revendication 13]

Procédé selon la revendication 12 :

- (a) si la composition comprend la première combinaison d'oligomères d'amplification SIP, alors la séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à SIP est SEQ ID NO : 9, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ;
- (b) si la composition comprend la deuxième combinaison d'oligomères d'amplification SIP, alors la séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à SIP est SEQ ID NO : 11, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; et
- (c) si la composition comprend la première combinaison d'oligomères d'amplification CFB, alors la séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à CFB est SEQ ID NO : 24, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ;
- (d) si la composition comprend la deuxième combinaison d'oligomères d'amplification CFB, alors la séquence d'hybridation de cible de la sonde de détection spécifique à CFB est SEQ ID NO : 22 ou 23, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci ; et
- (e) si la composition comprend la troisième combinaison d'oligomères d'amplification CFB, alors la séquence d'hybridation de cible de sonde de détection spécifique à CFB est SEQ ID NO : 25, ou un équivalent ARN ou une chimère ADN/ARN de celle-ci.

[Revendication 14]

Procédé selon l'une quelconque des revendications 8 à 13, l'étape de détection étant effectuée en temps réel.

[Revendication 15]

Procédé selon l'une quelconque des revendications 8 à 14, la réaction d'amplification d'acide nucléique *in vitro* étant une réaction d'amplification PCR.

- [Revendication 16] Formulation aqueuse pour l'amplification d'acide nucléique de streptocoques du groupe B (GBS), la formulation aqueuse comprenant :
- une composition selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, et un tampon organique.
- [Revendication 17] Formulation aqueuse selon la revendication 16, la formulation aqueuse comprenant en outre un ou plusieurs éléments parmi : une enzyme ADN polymérase, une enzyme transcriptase inverse, et un agent de charge choisi dans le groupe constitué par le tréhalose, le raffinose et une combinaison de ceux-ci.
- [Revendication 18] Formulation aqueuse selon la revendication 16 ou 17, la formulation contenant un sel inorganique à une concentration de 4 mM ou moins.
- [Revendication 19] Formulation aqueuse selon l'une quelconque des revendications 16 à 18, la formulation aqueuse comprenant en outre un tensioactif, un tensioactif non linéaire, un mono-[4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl)phényl]éther de polyéthylèneglycol, un polysorbate 20, ou une combinaison de ceux-ci.
- [Revendication 20] Formulation séchée pour l'amplification d'acide nucléique de streptocoques du groupe B (GBS), la formulation séchée étant une formulation lyophilisée de la formulation aqueuse selon l'une quelconque des revendications 16 à 19.
- [Revendication 21] Combinaison pour la détection d'acide nucléique de streptocoques du groupe B (GBS) comprenant :
- (a) une formulation aqueuse comprenant la combinaison d'oligomères d'amplification SIP de la revendication 1 et un tampon organique ; et une formulation aqueuse comprenant l'oligomère de sonde de détection spécifique à SIP de la revendication 2 ou 3 et un tampon organique ;
- (b) une formulation aqueuse comprenant la combinaison d'oligomères d'amplification SIP de la revendication 1 et un tampon organique, une formulation aqueuse comprenant la combinaison d'oligomères d'amplification CFB de la revendication 4 et un tampon organique ; une formulation aqueuse comprenant l'oligomère de sonde de détection spécifique à SIP selon la revendication 2 ou 3 et un tampon organique, et une formulation aqueuse comprenant l'oligomère de sonde de détection spécifique à CFB selon la revendication 5 ou 6 et un tampon organique ; ou

- (c) une formulation aqueuse comprenant la combinaison d'oligomères d'amplification SIP de la revendication 1, la combinaison d'oligomères d'amplification CFB de la revendication 4, et un tampon organique ; et une formulation aqueuse comprenant l'oligomère de sonde de détection spécifique à SIP selon la revendication 2 ou 3, l'oligomère de sonde de détection spécifique à CFB selon la revendication 5 ou 6, et un tampon organique.
- [Revendication 22] Combinaison selon la revendication 21, une ou plusieurs des formulations aqueuses comprenant en outre une ou plusieurs des formulations suivantes :
- (a) un tensioactif, un tensioactif non linéaire, un mono-[4-(1,1,3,3-tétraméthylbutyl)phényl]éther de polyéthylène glycol, un polysorbate 20 ou une combinaison de ceux-ci ;
 - (b) une enzyme ADN polymérase ;
 - (c) une enzyme transcriptase inverse ; et
 - (d) un agent de charge choisi dans le groupe constitué par le tréhalose, le raffinose et une combinaison de ceux-ci.
- [Revendication 23] Combinaison selon la revendication 21 ou 22, une ou plusieurs des formulations aqueuses contenant un sel inorganique à une concentration de 4 mM ou moins.
- [Revendication 24] Combinaison pour la détection d'un acide nucléique de streptocoques du groupe B (GBS), la combinaison comprenant des formulations séchées consistant en des formulations lyophilisées des formulations aqueuses selon l'une quelconque des revendications 21 à 23.
- [Revendication 25] Mélange réactionnel pour l'amplification et/ou la détection d'acide nucléique de streptocoques du groupe B (GBS), le mélange réactionnel étant formé par reconstitution de la formulation séchée selon la revendication 20 avec de l'eau ou un tampon organique.
- [Revendication 26] Mélange réactionnel selon la revendication 25, le mélange réactionnel contenant un sel inorganique choisi dans le groupe constitué par le magnésium, le potassium et le sodium, la concentration du sel inorganique étant de 4 mM ou moins.
- [Revendication 27] Combinaison de mélanges réactionnels pour la détection d'acide nucléique de streptocoques du groupe B (GBS), les mélanges réactionnels étant formés par reconstitution des formulations séchées selon la revendication 24 avec de l'eau ou un tampon organique.
- [Revendication 28] Combinaison de mélanges réactionnels selon la revendication 27, au moins l'un des mélanges réactionnels contenant un sel inorganique,

de préférence un sel inorganique choisi dans le groupe constitué par le magnésium, le potassium et le sodium, la concentration du sel inorganique étant de 4 mM ou moins.