



BioGX

Molecular Made Easy

COVID-19, Flu A, Flu B, RSV OSR for BD MAX™

REF 400-060-G-MAX

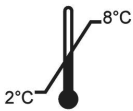


24 réactions

Mode d'emploi

Pour le diagnostic *in vitro*

À utiliser avec le système BD MAX™



BioGX BV
Science Park 408, 1098 XH Amsterdam, Pays-Bas
Téléphone : +31.20.893.4261
Télécopie : +31.20.240.9149



Straker Translations
Level 2, 49 Parkway drive, Rosedale
Auckland, 0632
Nouvelle-Zélande
Téléphone: +64 9 801 0648

NOM COMMERCIAL

COVID-19, Flu A, Flu B, RSV - RT-PCR for BD MAX™

UTILISATION PRÉVUE

BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV - RT-PCR for BD MAX™ est un test en temps réel de transcriptase inverse et de réaction en chaîne par polymérase (PCR) à utiliser sur la plateforme BD MAX™ pour la détection qualitative de la présence d'ARN du SARS-CoV-2 (N1 ; gène phosphoprotéique de la nucléocapside^{1, 2, 3}), de l'influenza A (gène de la matrice⁴), de l'influenza B (gène non structurel⁴), du VRS A/VRS B (gène de la nucléoprotéine⁴) à partir des échantillons suivants :

- **Prélèvement d'écouvillons nasopharyngés**
 - Copan Universal Transport Media (UTM[®])
 - BD™ Universal Viral Transport (UVT)
 - Solution saline (NaCl à 0,85 %)

- **Prélèvement d'écouvillons oropharyngés**
 - Copan Universal Transport Media (UTM[®])
 - BD™ Universal Viral Transport (UVT)
 - Solution saline (NaCl à 0,85 %)

Le test ne peut être réalisé que sur l'instrument automatisé d'extraction d'acide nucléique et de PCR en temps réel BD MAX™ en utilisant la bandelette d'extraction BD MAX™ ExK™ TNA-3 et le fichier BioGX UDP qui l'accompagne.

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

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

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

L'influenza, également connue sous le nom de grippe, est une maladie respiratoire contagieuse causée par le virus de l'influenza. La grippe peut causer des maladies légères à graves, y compris, mais sans s'y limiter, de la fièvre, de la toux, des maux de gorge, des douleurs musculaires et de la fatigue. Les deux principaux types de virus de la grippe, les types A et B, infectent principalement les humains. La grippe est présente dans le monde entier avec un taux de fréquence annuel estimé entre 5 % et 10 % chez les adultes et entre 20 % et 30 % chez les enfants⁵. Les maladies peuvent entraîner des hospitalisations et des décès principalement parmi les groupes à haut risque (les très jeunes, les personnes âgées ou les malades chroniques). Dans le monde entier, on estime que ces épidémies annuelles entraînent environ 3 à 5 millions de cas de maladie grave et environ 250 000 à 500 000 décès.

Aux États-Unis, le virus respiratoire syncytial (VRS) est la cause la plus fréquente d'infections des voies respiratoires inférieures chez les jeunes enfants et la principale cause de décès par maladie respiratoire chez les patients âgés de 65 ans et plus. On estime que le VRS est la deuxième cause de décès par infection des voies respiratoires inférieures dans le monde, ayant entraîné 76 612 décès en 2016⁶. Les symptômes du VRS sont similaires à ceux d'autres infections respiratoires, y compris la grippe. Il n'existe aucun traitement spécifique pour le VRS et les chercheurs travaillent à développer des vaccins et d'autres agents de traitement antiviraux⁷. Les deux principaux sous-types antigéniques, le VRS A et le VRS B, co-circulent pendant les pics saisonniers d'infection. En raison d'études contradictoires, l'association de la gravité de la maladie à l'un ou l'autre des sous-types est un domaine de recherche continue⁸.

Le syndrome respiratoire aigu sévère 2 (SARS-CoV-2) est un nouveau bêta-coronavirus à l'origine de la maladie respiratoire COVID-19 qui se transmet entre humains infectés par des gouttelettes respiratoires. Les symptômes de la COVID-19 vont d'une maladie bénigne (toux sèche, fatigue, fièvre et essoufflement) à une maladie grave, voire au décès⁹. Depuis que les premiers cas de COVID-19 ont été identifiés en décembre 2019 à Wuhan, en Chine, la maladie s'est propagée rapidement dans le monde entier. Le 28 août 2020, l'OMS a confirmé 24 257 989 infections et 827 246 décès liés à la COVID-19 à travers le monde¹⁰. Comme pour la grippe et le VRS, il a été démontré que les personnes âgées, immunodéprimées et celles atteintes de maladies cardiovasculaires, de diabète et de maladies respiratoires chroniques courent un risque plus élevé de maladie grave. En amont des efforts de vaccination mondiaux, les tests de dépistage sur les patients et les mesures de distanciation sociale imposées par les gouvernements du monde entier se sont avérés être le seul moyen d'endiguer les taux de transmission^{11, 12}.

Des études de cas cliniques récentes ont fait état d'une co-infection entre le SARS-CoV-2, la grippe et le VRS, et le taux d'incidence d'une co-infection entre le SARS-CoV-2 et la grippe A ou le SARS-CoV-2 et le VRS pourrait atteindre 65 % et 10 %, respectivement, selon la situation géographique et le contexte de l'épidémie^{13, 14}. Le SARS-CoV-2, la grippe et le VRS ont en commun des voies de transmission entre humains, une présence saisonnière et des symptômes cliniques qui se ressemblent. Pour une classification étiologique précoce et une identification opportune des éventuelles co-infections, il est crucial d'inclure plusieurs agents pathogènes respiratoires dans l'algorithme de diagnostic. En particulier pendant les mois d'hiver, le nombre des hospitalisations et les taux d'admission pour des maladies respiratoires augmentent, ce qui a un impact sur la gestion des patients et des lits et entraîne des coûts supplémentaires liés à l'isolement des cas suspects. La différenciation des virus respiratoires communs tels que la grippe, le VRS et le SARS-CoV-2 permet de prendre des mesures efficaces de prévention et de contrôle de l'infection et aide les cliniciens à administrer les agents thérapeutiques appropriés pour limiter efficacement la propagation au sein de la population¹⁵.

PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV RT-PCR for BD MAX™ est destiné à être utilisé avec le système ouvert BD MAX™ pour le traitement automatisé des échantillons de patients et l'analyse moléculaire. Le système BD MAX™ utilise une combinaison de réactifs de lyse et d'extraction pour réaliser la lyse des cellules et l'extraction des acides nucléiques. Après une lyse enzymatique des cellules à température élevée, les acides nucléiques libérés sont capturés par des billes d'affinité magnétique. Pour contrôler l'efficacité de l'extraction, un témoin du traitement des échantillons d'ARN est inclus dans chaque tube d'extraction BD MAX™. Les billes contenant les acides nucléiques liés sont lavées et les acides nucléiques sont élués par la chaleur dans un tampon d'éluion. L'acide nucléique élué est alors mélangé avec le tampon de réhydratation BioGX Rehydration Buffer, qui est ensuite transféré dans le tube de mélange maître lyophilisé BioGX Sample-Ready™ lyophilized Master Mix afin de le réhydrater. Le mélange réhydraté de réactif d'amplification et d'acide nucléique est ensuite distribué dans la cartouche PCR BD MAX™. Les micro-vannes de la cartouche PCR BD MAX™ sont scellées par le système avant le lancement de PCR pour éviter l'évaporation et la contamination de l'amplicon.

L'ARN extrait est soumis à une transcription inverse en ADNc et les séquences cibles sont amplifiées par PCR. La ou les cibles amplifiées sont détectées pendant l'amplification à l'aide de sondes d'hydrolyse marquées à une extrémité par un colorant rapporteur fluorescent (fluorophore) et à l'autre extrémité par un fragment désactivateur. Des sondes marquées par différents fluorophores sont utilisées pour détecter des amplicons spécifiques provenant du SARS-CoV-2, de la grippe A, de la grippe B, du VRS A et B et de l'ARN témoin du traitement des échantillons dans les canaux optiques attribués indiqués ci-dessous :

- | | |
|---|---------------|
| ● SARS-CoV-2 (N1) | canal 475/520 |
| ● Influenza A | canal 530/565 |
| ● VRS A/B | canal 585/630 |
| ● Influenza B | canal 630/665 |
| ● Témoin du traitement des échantillons | canal 680/715 |

Lorsque les sondes sont dans leur état natif, la fluorescence du fluorophore est éteinte en raison de sa proximité avec le désactivateur. Cependant, en présence de leur ADNc cible spécifique, les sondes s'hybrident à leurs séquences complémentaires et sont hydrolysées par l'activité exonucléase 5'-3' de l'ADN polymérase lorsqu'elle synthétise le brin naissant le long de la matrice d'ADNc. En conséquence, les fluorophores sont séparés de leurs molécules extinctrices et une fluorescence est émise. La quantité de fluorescence détectée dans les cinq canaux optiques utilisés pour le multiplex BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV est directement proportionnelle à la quantité de la sonde correspondante qui est hydrolysée, et donc généralement proportionnelle à la quantité de cible synthétisée. Le système BD MAX™ mesure ces signaux à la fin de chaque cycle d'amplification en temps réel et interprète les données pour fournir un résultat qualitatif pour chacune des cibles ci-dessus. Un résultat positif pour la détection de l'ARN cible est indiqué par la présence d'une courbe de croissance de la PCR en temps réel et d'une valeur Ct (seuil de cycle) associée.

RÉACTIFS

Qté	RÉF	Contenu	Tests
1	400-060-MAX	BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV - RT-PCR for BD MAX™ Sample-Ready™ lyophilized PCR Master Mix contenant de la polymérase, de la transcriptase inverse, des nucléotides, des amorces et sondes moléculaires spécifiques et des tampons PCR.	24 tests par sachet
1	800-033-G	BioGX Rehydration Buffer G Tube de réactif contenant le tampon de réhydratation BioGX Rehydration Buffer à utiliser pour la réhydratation du mélange maître PCR Master Mix lyophilisé.	24 tests par sachet

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



ÉQUIPEMENT ET MATÉRIEL NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Instrument automatisé d'extraction d'acide nucléique et de PCR en temps réel BD MAX™
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (n° de catalogue BD 442828).
Les kits d'extraction comprennent des tubes de tampon d'échantillon (SBT), des bouchons de septum, des tubes d'extraction, des tubes coniques de 0,3 ml et des bandelettes réactives unitaires en nombre suffisant pour 24 tests.
- Cartouches PCR BD MAX™ (n° de catalogue BD 437519).
- BioGX Lyophilized RNA Control Template Beads (1 x 10⁵ copies/bille).
 - Gène de la phosphoprotéine de la nucléocapside du SARS-CoV-2 (N1) (n° de catalogue BioGX 720-0206)
 - Grippe A (n° de catalogue BioGX 720-0002)
 - Grippe B (n° de catalogue BioGX 720-0003)
 - VRS A (n° de catalogue BioGX 720-0181)
 - VRS B (n° de catalogue BioGX 720-0182)
- Dispositif de prélèvement d'écouvillons stérile approprié pour le prélèvement d'écouvillons nasopharyngés/oropharyngés et leur stockage dans le milieu de transport universel Copan (UTM[®]), le milieu de transport viral universel BD™ (UVT) ou une solution saline (NaCl à 0,85 %).
- Vortex Genie 2 Vortexer (n° de catalogue VWR 58815-234) ou équivalent.
- Gants jetables en nitrile.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS



- Le BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV – OSR for BD MAX™ ne peut être utilisé qu'avec l'instrument automatisé d'extraction d'acide nucléique et de PCR en temps réel BD MAX™ utilisant la bandelette d'extraction BD MAX™ ExK™ TNA-3 et le fichier BioGX UDP qui l'accompagne.
- Il convient de traiter tous les échantillons biologiques, y compris les kits d'extraction et les cartouches PCR utilisés, comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux, conformément aux procédures de laboratoire sécurisées telles que celles décrites dans le document M29¹⁶ du CLSI (Institut des normes cliniques et de laboratoire) et dans la publication « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories »¹⁷.

- Les caractéristiques relatives à l'efficacité de ce test ont été déterminées uniquement avec les types de prélèvements énumérés dans la rubrique « Utilisation prévue ». L'efficacité de ce test avec d'autres types de prélèvements ou d'échantillons n'a pas été évaluée.
- N'utilisez pas les réactifs si les sachets de protection sont ouverts ou déchirés à l'arrivée.
- Refermez rapidement les sachets de protection des réactifs au moyen de la fermeture éclair après chaque utilisation. Supprimez tout excès d'air dans les sachets avant de les sceller et conservez-les à une température comprise entre 2 et 8 °C.
- Ne retirez pas le déshydratant des sachets de PCR Master Mix.
- N'utilisez pas le mélange maître Master Mix si le déshydratant n'est pas présent ou est cassé à l'intérieur des sachets.
- N'utilisez pas les tubes de réactif si la feuille d'étanchéité a été ouverte ou endommagée.
- Ne mélangez pas les réactifs de différents sachets, kits ou lots.
- N'utilisez pas de réactifs et/ou de matériaux périmés.
-  Chaque tube Master Mix et BioGX Rehydration Buffer est utilisé pour traiter un seul échantillon. Ne réutilisez pas les tubes Master Mix ou BioGX Rehydration Buffer.
-  Reportez-vous aux instructions du kit d'extraction BD MAX™ ExK™ TNA-3 pour obtenir des informations sur la manipulation correcte, les précautions à prendre et l'élimination appropriée des déchets.
- Ne mélangez pas les bouchons de septum entre les tubes de tampon d'échantillon et ne réutilisez pas les bouchons de septum car une contamination pourrait se produire et compromettre les résultats du test.

- Vérifiez que les bandelettes réactives unitaires BD sont correctement remplies de liquide (assurez-vous que les liquides sont au fond des tubes).
- N'utilisez pas la pipette à la bouche.
- Ne fumez pas, ne buvez pas et ne mangez pas dans les zones où des échantillons ou des kits sont manipulés.
- Éliminez les réactifs non utilisés et les déchets conformément aux réglementations nationales, fédérales, provinciales, nationales et locales.
- Utilisez des gants propres lors de la manipulation des composants du kit d'extraction, des réactifs PCR et des tubes de tampon.

STOCKAGE ET STABILITÉ



- BioGX recommande un stockage à long terme des sachets non ouverts entre 2 et 8 °C. Consultez l'étiquette du sachet du produit pour connaître sa durée de conservation.



- Les réactifs restent stables pendant 5 jours à une température comprise entre 2 et 30 °C pendant le transport.
- Les réactifs ont été testés pour prouver leur efficacité optimale lorsqu'ils sont stockés correctement et utilisés avant la date de péremption. Des études de stabilité à long terme sont en cours et la date de péremption sera modifiée au fur et à mesure que des données supplémentaires seront disponibles.



- Évitez d'exposer les réactifs (lyophilisés ou réhydratés) à la lumière directe du soleil ou à un éclairage ambiant à long terme.



- Refermez hermétiquement le sachet avec les réactions non utilisées et conservez le sachet dans un endroit sec immédiatement après ouverture.
- Éviter l'exposition à l'humidité et utiliser la totalité du contenu du sachet ouvert dans les 2 mois lorsqu'il est conservé à une température comprise entre 2 et 8 °C.

MODE D'EMPLOI

BD MAX™

(Logiciel d'exploitation BD MAX™ Logiciel Windows V4.70A ou plus récent)

Installez le protocole eUDP de BioGX sur le BD MAX™. Il sera nécessaire d'importer un protocole eUDP sur le BD MAX™. L'eUDP le plus récent est disponible en téléchargement sur www.biogx.com dans le menu déroulant en haut à droite de la page d'accueil. Sélectionnez « Education Center », puis « Int. Product Documents ». Choisissez le numéro de produit approprié après avoir cliqué sur « Instructions for Use Manual & Product Inserts » et téléchargez l'eUDP. Veuillez vous référer au manuel d'utilisation²⁰ de BD MAX™ pour les instructions de téléchargement.

Préparation des échantillons

Dispositifs de prélèvement et de transport Copan UTM[®], BD™ UVT et solution saline (NaCl à 0,85 %) (volume de prélèvement de 3 ml)

BD MAX™

Introduisez à la pipette 500 µL d'échantillon dans le tube de tampon d'échantillon (SBT), placez de manière aseptique le bouchon de septum BD™ sur chaque SBT. Mélangez par pulsation le SBT pendant 1 à 3 secondes et placez le SBT dans le plateau d'extraction.

Dispositifs de prélèvement et de transport Copan UTM[®], BD™ UVT et solution saline (NaCl à 0,85 %) (volume de prélèvement de 1 ml)

BD MAX™

Introduisez à la pipette 500 µL d'échantillon dans le tube de tampon d'échantillon (SBT), placez de manière aseptique le bouchon de septum BD™ sur chaque SBT. Mélangez par pulsation le SBT pendant 1 à 3 secondes et placez le SBT dans le plateau d'extraction. Remarque : pour les échantillons inhibiteurs contenant un excès de mucus, refaites le test en pipetant 150 µl d'échantillon et 350 µl d'eau de qualité moléculaire dans un tube de tampon d'échantillon (SBT) et placez de manière aseptique un bouchon de septum BD™ sur le SBT.

Autres types d'échantillons



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

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

1. Portez des gants en nitrile lorsque vous manipulez les réactifs lyophilisés Sample-Ready™ afin de réduire la génération de charges statiques. N'UTILISEZ PAS de gants en latex.



2. Utilisez uniquement les kits d'extraction BD MAX™ ExK™ TNA-3 avec le produit BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV RT-PCR for BD MAX™.
3. Chargez une cartouche d'extraction dans le plateau d'extraction par échantillon à tester.
4. Placez un tube d'extraction BD MAX™ à la position 1 (point 1) de chaque bandelette réactive unitaire (figure 1).
5. Insérez un tube de réactif BioGX Sample-Ready™ lyophilized PCR Master Mix dans la position 2 (point 2) de chaque bandelette réactive unitaire. Vérifiez que la galette lyophilisée Sample-Ready™ se trouve au fond du tube avant de l'insérer dans la bandelette réactive unitaire. La galette en forme d'entonnoir peut être dans n'importe quelle orientation (v, >, ^, <) au **fond** du tube.
6. Insérez un tube BioGX Rehydration Buffer dans la position 3 (point 3) de chaque bandelette réactive unitaire. Assurez-vous que le tampon est au fond du tube avant de l'insérer dans la bandelette réactive unitaire.
7. Soulevez le plateau et examinez brièvement le fond de chaque bandelette réactive unitaire pour vous assurer que tous les réactifs se trouvent au fond de chaque tube.

8. Procédez à la génération de la liste de travail et au chargement des échantillons conformément au mode d'emploi de BD MAX™. Sélectionnez le protocole défini par l'utilisateur (eUDP) approprié fourni par BioGX.
9. Chargez le plateau d'extraction et, si nécessaire, une nouvelle carte PCR dans l'instrument, fermez la porte et cliquez sur « Start Run ».

REMARQUE : Insérez toujours d'abord tous les tubes au point 1, puis tous les tubes au point 2, puis tous les tubes au point 3 dans la bandelette réactive unitaire. La position 4 restera vide.

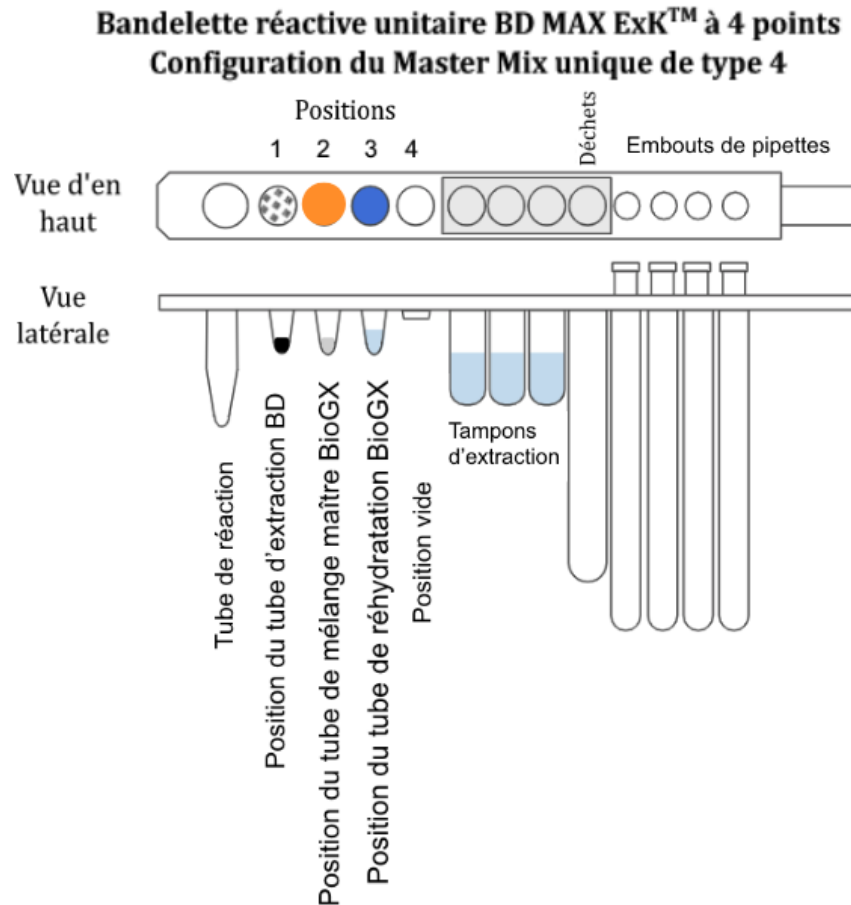


Figure 1. Schéma des bandelettes réactives unitaires BD MAX™ ExK™ à 4 points TNA-3.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

CONTRÔLE

L'étalonnage de BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV – OSR for BD MAX™ n'est pas requis. Chaque BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV RT-PCR for BD MAX™ comprend des amorces moléculaires et des sondes spécifiques pour la détection du contrôle de traitement d'échantillon exogène (SPC). Aucun ajout externe de SPC n'est nécessaire. Le SPC est utilisé à la fois comme témoin de l'extraction de l'échantillon et comme témoin d'amplification interne (IAC) de la PCR.

Les laboratoires doivent déterminer le nombre, le type et la fréquence des tests des échantillons de contrôle conformément aux directives ou aux exigences des réglementations locales, provinciales, étatiques, fédérales et/ou nationales ou des organismes d'accréditation, afin de contrôler l'efficacité de l'ensemble du processus analytique. Pour des conseils généraux sur le contrôle de la qualité, l'utilisateur est invité à consulter les documents MM3 et EP12^{17, 18} du CLSI. Les témoins externes disponibles auprès de BioGX sont traités comme s'il s'agissait d'échantillons de patients (reportez-vous au tableau 1 sous rubrique « Interprétation des résultats » pour l'interprétation des résultats du témoin externe).

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

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

Le témoin positif externe est destiné à surveiller les défaillances importantes des réactifs. Il est possible d'utiliser des échantillons de contrôle disponibles dans le commerce auprès de BioGX ou d'autres sources autorisées. Pour les suspensions de contrôle externe BioGX, il est recommandé que les suspensions d'ARN soient préparées conformément à leur mode d'emploi respectif, puis ajoutées au tube de tampon d'échantillon (SBT). Veuillez vous référer au mode d'emploi BioGX disponible en téléchargement sur www.biogx.com en cliquant sur « Int. Product Documents » sous « Education Center » et en sélectionnant le produit approprié sous « Template Controls ».

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

Un témoin externe dont le résultat est incertain, indéterminé ou incomplet indique une défaillance du réactif ou du système BD MAX™. Vérifiez que le moniteur du système BD MAX™ ne contient pas de messages d'erreur. Reportez-vous à la partie « Résumé des erreurs du système » du manuel d'utilisation du système²⁰ BD MAX™ pour l'interprétation des codes d'avertissement et d'erreur. Si le problème persiste, utilisez des réactifs provenant d'un sachet non ouvert ou utilisez un nouveau kit de test.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les résultats sont disponibles à l'onglet *Results* de la fenêtre *Results* sur le moniteur du système BD MAX™. Le logiciel du système BD MAX™ interprète automatiquement le résultat du test lorsque l'eUDP de BioGX est utilisé. La présence d'une ou plusieurs cibles est possible et entraînera la positivité de plusieurs cibles à la fois. Reportez-vous à la partie « Dépannage » du manuel d'utilisation du système²⁰ BD MAX™ pour l'interprétation des codes d'avertissement et d'erreur.

Témoins négatifs et positifs externes

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

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

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

Tableau 1. Interprétation des témoins externes BioGX.

Type de témoin	Applicabilité pour la surveillance	Résultats escomptés				
		Grippe A	Grippe B	VRS A/B	SARS CoV-2 (N1)	SPC
Témoin négatif - ajout d'eau de qualité moléculaire*	Contamination des réactifs et/ou de l'environnement	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
Témoin négatif - échantillon négatif connu		Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
SARS CoV-2 N1 Témoin positif	Défaillance substantielle des réactifs, y compris l'intégrité des amorces et des sondes	Négatif	Négatif	Négatif	Positif	Positif
Grippe A Témoin positif	Défaillance substantielle des réactifs, y compris l'intégrité des amorces et des sondes	Positif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
Grippe B Témoin positif	Défaillance substantielle des réactifs, y compris l'intégrité des amorces et des sondes	Négatif	Positif	Négatif	Négatif	Positif
VRS A Témoin positif	Défaillance substantielle des réactifs, y compris l'intégrité des amorces et des sondes	Négatif	Négatif	Positif	Négatif	Positif
VRS B Témoin positif	Défaillance substantielle des réactifs, y compris l'intégrité des amorces et des sondes	Négatif	Négatif	Positif	Négatif	Positif

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

Examen et interprétation des résultats des échantillons de patients

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

Tableau 2. Interprétation des résultats des échantillons de patients²¹.

SARS CoV-2 (N1)	Grippe A	Grippe B	VRS A/B	SPC	Interprétation des résultats
Positif	Négatif	Négatif	Négatif	POS/NÉG	SARS CoV-2 POSITIF
Négatif	Positif	Négatif	Négatif	POS/NÉG	Influenza A POSITIF
Négatif	Négatif	Positif	Négatif	POS/NÉG	Influenza B POSITIF
Négatif	Négatif	Négatif	Positif	POS/NÉG	VRS A/B POSITIF
Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Positif	NÉGATIF
Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif	INCERTAIN (UNR) ^a
Non détecté	Non détecté	Non détecté	Non détecté	Non détecté	INDÉTERMINÉ (IND) ^b
Non détecté	Non détecté	Non détecté	Non détecté	Non détecté	INCOMPLET (INC) ^c

^aRépétez l'opération en préparant une nouvelle extraction et une PCR à partir de l'échantillon restant du patient pour confirmer le résultat.

^bIndéterminé en raison de la défaillance du système BD MAX™. Reportez-vous à la partie « Dépannage » du manuel d'utilisation du système²⁰ BD MAX™ pour l'interprétation des codes d'avertissement et d'erreur.

^cAnalyse incomplète en raison de la défaillance du système BD MAX™. Reportez-vous à la partie « Dépannage » du manuel d'utilisation du système²⁰ BD MAX™ pour l'interprétation des codes d'avertissement et d'erreur.

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

RÉPÉTER LA PROCÉDURE DE TEST

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

LIMITES DE LA PROCÉDURE

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

- Le témoin du traitement des échantillons a été ajouté au test pour faciliter l'identification des échantillons contenant des inhibiteurs de l'amplification par PCR et pour contrôler l'intégrité des réactifs et du système de test dans son ensemble.
- Les résultats de BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV RT-PCR for BD MAX™ peuvent parfois être considérés comme incertains à cause d'un témoin du traitement des échantillons invalide, ou indéterminés ou incomplets à cause d'une défaillance de l'instrument, et nécessiter un nouveau test qui peut entraîner un retard dans l'obtention des résultats finaux.
 - Des mutations ou des polymorphismes dans les zones de liaison des amorces ou des sondes peuvent affecter la détection de variantes nouvelles ou inconnues de SARS-CoV-2, grippe A, grippe B, VRS A et VRS B, entraînant un résultat faussement négatif avec le test BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV RT-PCR for BD MAX™.
 - Le BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV RT-PCR for BD MAX™ nécessite l'utilisation de cinq (5) canaux optiques sur le système BD MAX™.

CARACTÉRISTIQUES D'EFFICACITÉ

Spécificité analytique et diagnostique

La spécificité a été déterminée en analysant la matrice d'échantillons négatifs (échantillons nasopharyngés Copan UTM[®]) dopée avec des matrices de témoin positif. Le BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV RT-PCR for BD MAX™ était positif pour toutes les cibles respectives.

Le BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV RT-PCR for BD MAX™ a été réalisé avec ATCC MSA-1002 (matériau génomique Even Mix 20 souches) ne contenant pas d'ARN génomique pour SARS-CoV-2, grippe A, grippe B, VRS A ou B. Les résultats étaient négatifs pour SARS-CoV-2, grippe A, grippe B, VRS A ou B.

Sensibilité analytique et diagnostique

La sensibilité analytique du BioGX COVID-19, Flu A, Flu B, RSV RT-PCR for BD MAX™ a été déterminée avec des échantillons artificiels (n=20) générés en dopant individuellement l'ARN viral génomique quantifié de : SARS-CoV-2 (réf. Vircell MBC137-R), grippe A H1N1 (réf. Vircell MBC028-R), grippe A H3N2 (réf. Vircell MBC029-R), grippe B (réf. Vircell MBC030-R), VRS A (réf. Vircell MBC041-R), VRS B (réf. Vircell MBC083-R) dans des prélèvements nasopharyngés négatifs Copan UTM[®] et salins négatifs. Virus SARS-CoV-2 titré (réf. Zeptomatrix NATSARS(COV2)-ST) La sensibilité analytique (limite de détection, LdD) est définie comme la concentration la plus faible à laquelle 95 % de tous les échantillons répliqués sont positifs (tableau 3).

Tableau 3. Valeurs LdD pour les échantillons artificiels Copan UTM® et salins.

Cible	Copan UTM® LdD (copies par ml)	Seuil de cycle (Ct) escompté	Saline LdD (copies par ml) ^d	Seuil de cycle (Ct) escompté
SARS-CoV-2 ^e	120	33-39	120	33-39
SARS-CoV-2 ^f	120	33-36	120	33-37
Grippe A (H1N1) ^f	960	32-39	320	34-39
Grippe A (H3N2) ^f	160	32-36	160	30-33
Grippe B ^f	80	30-33	80	32-37
VRS A ^f	80	29-32	80	29
VRS B ^f	2000	31-34	1200	33-37

^d Les prélèvements inhibiteurs contenant un excès de mucus doivent être retestés comme décrit dans la partie « Préparation des échantillons » de la notice d'utilisation.

^eVirus titré par ZeptoMetrix.

^fARN génomique quantifié par Vircell.

Inclusivité (SARS-CoV-2 *in silico*)

Les amorces et la sonde BioGX SARS-CoV-2 N1 ont une séquence identique à celle du panel de diagnostic RT-PCR en temps réel de CDC 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV). Les CDC ont fait état d'une analyse *in silico* des séquences d'amorces et de sondes dans sa notice d'utilisation (CDC-006-0019, Rev 02)³. Un alignement a été réalisé avec les séquences d'amorces et de sondes oligonucléotidiques du panel de diagnostic par RT-PCR en temps réel de CDC 2019 nCoV avec toutes les séquences d'acide nucléique publiquement disponibles pour le 2019-nCoV dans GenBank au 20 juin 2020, afin de démontrer l'inclusivité prévue du panel de diagnostic par RT-PCR en temps réel de CDC 2019 nCoV. Tous les alignements montrent une identité >99 % du panel de CDC avec les séquences 2019-nCoV disponibles, à l'exception d'une séquence avec une fréquence de mésappariement >1 % dans la sonde N1, toutes les autres séquences évaluées ayant des fréquences de mésappariement <1 %. Les fréquences de mésappariement inférieures à 1 % ont permis de constater que deux séquences déposées distinctes présentaient deux mésappariements dans la sonde N1 et l'amorce inverse N1.

Réactivité croisée (SARS-CoV-2 *in silico*)

La séquence de la sonde pour N1 utilisée dans le test BioGX SARS-CoV-2 a montré une homologie de séquence élevée avec le coronavirus du SARS et le génome du coronavirus de chauve-souris lié au SARS. Cependant, les amorces directes et inverses n'ont montré aucune homologie de séquence avec le coronavirus du SARS et le génome du coronavirus de chauve-souris lié au SARS. En combinant les amorces et les sondes, il n'y a pas d'homologies significatives avec le génome humain, d'autres coronavirus ou la microflore humaine qui permettraient de prédire d'éventuels résultats faussement positifs de la rRT-PCR.

Reproductibilité

L'étude de reproductibilité a détecté des matrices d'ARN synthétiques analysées indépendamment par trois techniciens différents utilisant deux instruments BD MAX™ sur deux jours distincts. Tous les utilisateurs ont obtenu des résultats équivalents sur les deux instruments et les deux jours.

Reproductibilité de fabrication

Deux lots distincts ont été fabriqués et ont été jugés équivalents sur la base des procédures internes de validation du contrôle de la qualité.

















RÉFÉRENCES

1. US Centers for Disease Control and Prevention. 2020. 2019-Novel coronavirus (2019-nCoV) real-time rRT-PCR panel primers and probes. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/rt-pcr-panel-primer-probes.pdf>
2. US Centers for Disease Control and Prevention. 2020. Revision to Test Instructions CDC 2019 Novel Coronavirus (nCoV) Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel (EUA200001). https://www.aphl.org/Materials/Signed_CDC_Letter_to_PHLs-N3_Removal_Instructions_26Feb2020.pdf
3. US Centers for Disease Control and Prevention. 2020. 2019-Novel coronavirus (2019-nCoV) real-time rRT-PCR panel primers and probes. CDC-006-00019, 2e révision. <https://www.fda.gov/media/134922/download>
4. Chen, Yu, et al. « Simultaneous detection of influenza A, influenza B, and respiratory syncytial viruses and subtyping of influenza A H3N2 virus and H1N1 (2009) virus by multiplex real-time PCR. » *Journal of clinical microbiology* 49.4 (2011): 1653-1656.
5. Organisation mondiale de la santé. Fiche d'information sur la grippe saisonnière n° 211, mars 2014
6. Troeger, Christopher, et al. « Estimates of the global, regional, and national morbidity, mortality, and aetiologies of lower respiratory infections in 195 countries, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. » *The Lancet Infectious Diseases* 18.11 (2018): 1191-1210.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Respiratory Syncytial Virus (RSV). <http://www.cdc.gov>. Consulté le 31 août 2020.
8. Borchers, Andrea T., et al. « Respiratory syncytial virus—a comprehensive review. » *Clinical reviews in allergy & immunology* 45.3 (2013): 331-379.
9. Coronavirus disease 2019: COVID-19 Background. 2020. Consulté le 11 avril 2020. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/summary.html>
10. Coronavirus disease 2019 pandemic: Rolling updates on coronavirus disease (COVID-19). 2020. Consulté le 28 août 2020. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
11. Coronavirus disease 2019: COVID-19 Background. 2020. Consulté le 11 avril 2020. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/summary.html>
12. Coronavirus disease 2019 pandemic: Rolling updates on coronavirus disease (COVID-19). 2020. Consulté le 28 août 2020. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
13. Lepore, Luciana, et al. « Acute respiratory distress syndrome due to SARS-CoV-2 and Influenza A co-infection in an Italian patient: Mini-review of the literature. » *International Journal of Infectious Diseases* (2020).
14. Hashemi, Seyed Ahmad, et al. « High prevalence of SARS-CoV-2 and influenza A virus (H1N1) co-infection in dead patients in Northeastern Iran. » *Journal of medical virology* (2020).
15. Ozaras, Resat, et al. « Influenza and COVID-19 Co-infection: Report of 6 cases and review of the Literature. » *Journal of Medical Virology* (2020).
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (v. dernière édition).
17. Centers for Disease Control and Prevention et National Institutes of Health. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Choosewood L.C. et Wilson D.E. (eds) (2009). N° de publication HHS (CDC) 21-1112.
18. Clinical and Laboratory Standards Institute. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases, 3e édition. Nolte F. S. (2015). Document MM3 (v. dernière édition).
19. Clinical and Laboratory Standards Institute. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance, 2e édition. Garrett P. E. (2008). Document MM3 (v. dernière édition).
20. Manuel d'utilisation du système BD MAX™ (v. dernière révision), BD Life Sciences, Sparks, Maryland 21152 États-Unis.
21. L'Administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments (FDA) a mis à jour ses directives concernant l'utilisation d'une *seule* cible virale comme acceptable pour la détection du SARS-CoV-2. FAQs on Testing for SARS-CoV-2. (2020). Consulté le 25 juin 2020. <https://www.fda.gov/medical-devices/emergency-situations-medical-devices/faqs-testing-sars-cov-2>

HISTORIQUE DES RÉVISIONS

Révision	Date	Description de la modification
02	25 Septembre 2023	Clarification des conditions de stockage à long terme et spécification du stockage en sachet ouvert à 2-8°C des réactifs.
01	02 Décembre 2022	Première version

SYMBLES

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



BioGX

Science Park 408, 1098 XH Amsterdam, Pays-Bas
Téléphone : +31.20.893.4261 Télécopie : +31.20.240.9149