

REF 300900 - Bandelettes de test NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2**R only****Vantage Test Strip**

ATTENTION : pour exportation aux États-Unis uniquement

IVD Utilisation prévue pour le diagnostic *in vitro* avec les NeuMoDx™ 288 et NeuMoDx™ 96 Molecular SystemsPour les mises à jour des notices, consulter : www.qiagen.com/neumodx-ifu

Pour des instructions détaillées, se reporter au manuel d'utilisation du NeuMoDx™ 288 Molecular System ; réf. no 40600108

Pour des instructions détaillées, se reporter au manuel d'utilisation du NeuMoDx™ 96 Molecular System ; réf. no 40600317

UTILISATION PRÉVUE

Le NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay exécuté sur le NeuMoDx™ 288 Molecular System et le NeuMoDx™ 96 Molecular System (système(s) NeuMoDx Molecular) est un test automatisé rapide de diagnostic qualitatif *in vitro* par RT-PCR multiplex en temps réel, conçu pour la détection directe et la différenciation simultanées de l'ARN viral de la grippe A, de la grippe B, du virus respiratoire syncytial (VRS) et de l'ARN du SARS-CoV-2 à partir d'échantillons d'écouvillons nasopharyngés (NP) en milieu de transport prélevés sur des individus présentant des signes et des symptômes d'infections des voies respiratoires associés à des facteurs de risque cliniques et épidémiologiques.

Le diagnostic, le choix de traitement ou d'autres décisions relatives à la prise en charge des patients ne doivent en aucun cas se fonder sur ces seuls résultats. L'obtention de résultats positifs indique une infection active. Des résultats négatifs n'excluent pas une infection par le virus de la grippe, le VRS ou le SARS-CoV-2, et le choix de traitement ou d'autres décisions relatives à la prise en charge des patients ne doivent en aucun cas reposer sur ces seuls résultats.

Les caractéristiques de performance de la détection du virus de la grippe A et B ont été établies avec des échantillons cliniques prélevés au cours de la saison grippale 2019-2020. Lorsque d'autres virus de grippe A et B émergent, les caractéristiques de performance peuvent varier.

Le NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay est conçu pour être utilisé par un personnel de laboratoire clinique qualifié, spécialement formé aux techniques de real-time PCR, aux procédures diagnostiques *in vitro* et/ou aux NeuMoDx Molecular Systems.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Les échantillons nasopharyngés sur écouvillons sont prélevés dans les milieux de transport Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System, BD™ Universal Viral Transport System (UVT) ou Biologos Bio-VTM™ Viral Transport Media (VTM). Le test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay offre deux méthodes de traitement des échantillons en fonction des besoins des laboratoires. Pour préparer le test selon la méthode directe, le tube de prélèvement primaire (une fois l'écouvillon et le bouchon retirés), ou une aliquote du milieu de l'échantillon dans un tube de prélèvement secondaire, est identifié par un code-barres, puis chargé dans le NeuMoDx System à l'aide d'un porte-tubes à échantillon dédié. Pour la méthode avec prétraitement, l'échantillon dans son milieu de transport est d'abord traité avec un volume égal de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) avant d'être chargé sur le système. Avec la méthode directe, une aliquote d'échantillon de 400 µl est aspirée par le NeuMoDx System puis mélangée avec un volume égal de NeuMoDx Lysis Buffer 3, tandis qu'avec la méthode avec prétraitement, 550 µl d'échantillon prétraité sont ajoutés à un volume équivalent de Lysis Buffer 2. Le NeuMoDx Molecular System effectue automatiquement toutes les étapes nécessaires pour extraire l'acide nucléique cible, préparer l'ARN isolé pour la réaction en chaîne par polymérase en temps réel après transcriptase inverse (RT-PCR) et, s'ils sont présents, amplifier et détecter les produits d'amplification. Le NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay cible la région conservée du gène Nsp2 du SARS-CoV-2 et des régions des gènes M des génomes de la grippe A, de la grippe B et du virus respiratoire syncytial A ou B. Le NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay comprend un contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2) d'ARN, qui permet de contrôler la présence de substances potentiellement inhibitrices ainsi que les défaillances du NeuMoDx System ou des réactifs pouvant survenir durant le processus d'extraction et d'amplification.

PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay associe l'extraction automatisée de l'ARN et l'amplification/la détection par RT-PCR en temps réel. Les échantillons nasopharyngés sur écouvillons sont prélevés dans les milieux Copan UTM-RT® System, BD™ UVT System, ou Biologos Bio-VTM™ Viral Transport Media (VTM). La méthode directe permet le chargement sur le NeuMoDx System d'un tube primaire de prélèvement par écouvillonnage ou d'une aliquote du milieu de transport dans un tube secondaire pour leur traitement subséquent. Sinon, il est possible de traiter dans un premier temps un échantillon d'écouvillon NP dans son milieu de transport avec un volume égal de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer (VVLB) avant de le charger sur le System sans intervention supplémentaire de l'opérateur. Le NeuMoDx System aspire automatiquement, soit une aliquote d'échantillons à mélanger au NeuMoDx Lysis Buffer 3 dans le cas de la méthode directe, soit une aliquote d'échantillons prétraités à mélanger au Lysis Buffer 2 et aux réactifs présents dans la NeuMoDx™ Extraction Plate avant de lancer le traitement. Le NeuMoDx System assure l'automatisation et l'intégration de l'extraction et de la concentration de l'ARN, de la préparation des réactifs ainsi que de l'amplification et de la détection des séquences cibles à l'aide de la RT-PCR en temps réel. Le contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2) permet de contrôler la présence de substances inhibitrices ainsi que les défaillances du système, des processus ou des réactifs. Aucune intervention de l'opérateur n'est requise une fois l'échantillon chargé sur le NeuMoDx System.

Le NeuMoDx System fait appel à une association entre chaleur, enzyme lytique et réactifs d'extraction pour effectuer automatiquement la lyse, l'extraction de l'ARN et l'élimination des inhibiteurs. L'acide nucléique libéré est capturé par des particules paramagnétiques. Ces particules, sur lesquelles est fixé l'acide nucléique, sont chargées dans la NeuMoDx™ Cartridge où les éléments non fixés sont éliminés par rinçage avec le NeuMoDx™ Wash Reagent. L'ARN fixé est ensuite élué à l'aide du NeuMoDx™ Release Reagent. Le NeuMoDx System utilise l'ARN élué pour réhydrater les réactifs d'amplification exclusifs NeuDry™ contenant tous les éléments nécessaires à l'amplification des cibles de la grippe A, grippe B, du VRS, du SARS-CoV-2 et du contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2). Cela permet l'amplification et la détection simultanées de toutes les séquences d'ARN des cibles et du contrôle des processus de traitement de l'échantillon. Après reconstitution des réactifs de RT-PCR déshydratés, le NeuMoDx System distribue le mélange prêt pour la RT-PCR dans une chambre de PCR (une par échantillon) de la NeuMoDx Cartridge. La transcription inverse, l'amplification et la détection du contrôle et des séquences cibles (si elles sont présentes) s'effectuent dans la chambre de PCR. La NeuMoDx Cartridge est conçue pour contenir l'amplicon généré à l'issue de la RT-PCR, éliminant pratiquement tout risque de contamination après l'amplification.

Les cibles amplifiées sont détectées en temps réel grâce à l'hydrolyse de sondes (processus communément appelé « chimie TaqMan® ») constituées de molécules d'oligonucléotides fluorogènes spécifiques des amplicons de leurs cibles respectives. Les sondes TaqMan comportent un fluorophore lié par liaison covalente à l'extrémité 5' de la sonde oligonucléotidique et un quencher à l'extrémité 3'. Tant que la sonde est intacte, le fluorophore et le quencher sont à proximité l'un de l'autre, entraînant l'extinction par le quencher de la fluorescence émise par le fluorophore par transfert d'énergie entre molécules fluorescentes (Förster Resonance Energy Transfer, FRET).

Les sondes TaqMan® sont conçues pour s'hybrider dans une région d'ADN donnée amplifiée par un ensemble spécifique d'amorces. Au moment où la Taq ADN polymérase étend l'amorce et synthétise le nouveau brin, l'activité de l'exonucléase dans le sens 5' vers 3' de la Taq ADN polymérase dégrade la sonde qui s'est hybridée à la matrice. La dégradation de la sonde libère le fluorophore et met fin à sa proximité avec le quencher, supprimant l'extinction due au FRET et permettant la détection du fluorophore. Le signal de fluorescence généré, qui est détecté dans le thermocycleur NeuMoDx System de RT-PCR quantitative est directement proportionnel au fluorophore libéré, et peut être corrélé avec la quantité de séquence cible présente.

Les sondes TaqMan® sont marquées par des fluorophores à l'extrémité 5' et un quencher non fluorescent à l'extrémité 3' afin de détecter les cibles virales. Le canal de détection par fluorescence de chaque cible NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay est présenté dans le *Tableau 1*. Le logiciel du NeuMoDx System contrôle le signal fluorescent émis par les sondes TaqMan à la fin de chaque cycle d'amplification. Une fois le thermocyclage terminé, le logiciel du NeuMoDx System analyse les données et rapporte un résultat POSITIVE (positif) / NEGATIVE (négatif) / INDETERMINATE (indéterminé) / NO RESULT (aucun résultat) / UNRESOLVED (non résolu).

Tableau 1. Canal de détection

Organisme	Région cible	Sonde fluorophore	Excitation/Émission	Canal de détection
Grippe A	Gène M	HEX	530/555 nm	Jaune
Grippe B	Gène M	FAM	470/510 nm	Vert
SARS-CoV-2	Gène Nsp2	Texas Red	585/610 nm	Orange
Virus respiratoire syncytial	Gène M	Q705	680/715 nm	Rouge lointain
SPC2	Protéine d'assemblage (MS2)	Q670	625/660 nm	Rouge

RÉACTIFS/CONSOMMABLES

Matériel fourni

REF	Contenu	Unités par paquet	Tests par unité	Tests par paquet
300900	Bandelettes de test NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip <i>Réactifs de RT-PCR déshydratés contenant des amorces et des sondes TaqMan® spécifiques à la grippe A-B/au VRS/au SARS-CoV-2, ainsi que des amorces et une sonde TaqMan® spécifiques au SPC2.</i> <i>Contient 21,1 % de Tris-HCl, 8,4 % de dNTP et d'autres ingrédients inactifs</i>	6	16	96

Matériel nécessaire, mais non fourni (disponible séparément auprès de NeuMoDx)

REF	Contenu
100200	NeuMoDx™ Extraction Plate <i>Particules paramagnétiques déshydratées, enzyme lytique et contrôles du processus d'échantillonnage</i>
400500**	NeuMoDx™ Lysis Buffer 2
400600*	NeuMoDx™ Lysis Buffer 3
401500**	NeuMoDx™ Vantage Viral Lysis Buffer
400100	NeuMoDx™ Wash Reagent
400200	NeuMoDx™ Release Reagent
100100	NeuMoDx™ Cartridge
235903	Pointes Hamilton® CO-RE (300 µl) avec filtres
235905	Pointes Hamilton® CO-RE (1000 µl) avec filtres

* Requis uniquement en cas de traitement direct des échantillons sans étape de prétraitement. Consulter la section « Mode d'emploi » ci-dessous.

** Requis uniquement si une étape de prétraitement est souhaitée avant le chargement des échantillons. Consulter la section « Mode d'emploi » ci-dessous.

Écouvillons et milieux de transport (non fournis)

Type d'échantillon	Dispositif de prélèvement recommandé	Écouvillon recommandé
Échantillon nasopharyngé sur écouvillon	3 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT®, Copan, CA, États-Unis)	Flexible Minitip Nylon® Flocked Swab (Copan, CA, États-Unis) ou Flexible Minitip Flocked Swab (BD, NJ, États-Unis)
	ou 3 ml Universal Viral Transport System (BDTM UVT, BD, NJ, ÉTATS-UNIS)	
	ou 3ml Bio-VTM™ Viral Transport Medium (Bio-VTM™, Biologos LLC, IL, États-Unis)	

Instruments requis

NeuMoDx™ 288 Molecular System [RÉF 500100] ou NeuMoDx™ 96 Molecular System [RÉF 500200]


AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- La bandelette de test NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip est destinée à une utilisation prévue pour le diagnostic *in vitro* avec les NeuMoDx™ Systems uniquement.
- Ne pas utiliser les réactifs ou les consommables après la date de péremption indiquée.
- Ne pas utiliser les réactifs si le sceau de sécurité est brisé ou si l'emballage est endommagé à réception.
- Ne pas utiliser de réactifs ou de consommables si l'enveloppe protectrice est ouverte ou brisée à réception.
- Le volume d'échantillon minimal des aliquotes secondaires dépend de la taille du tube et du porte-tubes à échantillon telle que définie ci-dessous. Tout volume inférieur au minimum spécifié peut entraîner l'erreur suivante : « Quantity Not Sufficient » (Quantité insuffisante).
- L'utilisation d'échantillons conservés à des températures inappropriées ou plus longtemps que les durées de stockage spécifiées peut entraîner des résultats non valides ou erronés.
- Éviter la contamination de tous les réactifs et consommables par des microbes ou une ribonucléase (ARNase). L'utilisation de pipettes de transfert jetables, stériles et exemptes d'ADNase est recommandée en cas d'utilisation de tubes secondaires. Utiliser une nouvelle pipette pour chaque échantillon.
- Afin d'éviter la contamination, ne pas manipuler ou démonter la NeuMoDx Cartridge après amplification. Ne jamais récupérer de NeuMoDx Cartridges dans le récipient pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 288 Molecular System) ni dans la poubelle pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 96 Molecular System). La NeuMoDx Cartridge est conçue de façon à empêcher la contamination.

- Dans le cas où des tests de PCR à tube ouvert sont également effectués par le laboratoire, prendre des précautions pour s'assurer que la bandelette de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip, les consommables et les réactifs supplémentaires nécessaires au test, l'équipement de protection individuelle, comme les gants et les blouses, et le NeuMoDx System ne sont pas contaminés.
- Des gants en nitrile sans poudre propres doivent être enfilés avant la manipulation des réactifs et consommables NeuMoDx. Prendre les précautions nécessaires pour ne pas toucher la surface supérieure de la NeuMoDx Cartridge, la surface d'étanchéité en aluminium de la NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip et de la NeuMoDx Extraction Plate, ou encore le dessus du récipient du NeuMoDx Lysis Buffer. La manipulation des consommables et des réactifs doit se faire en limitant le contact aux surfaces latérales.
- Une fiche de données de sécurité (FDS) est fournie pour chaque réactif (le cas échéant) sur www.qiagen.com/safety.
- Se laver les mains soigneusement après avoir réalisé le test.
- Ne pas pipetter à la bouche. Ne pas fumer, manger ou boire dans les zones de manipulation des échantillons ou des réactifs.
- Toujours manipuler les échantillons comme s'ils étaient infectieux et conformément aux procédures de sécurité des laboratoires, comme celles décrites dans *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*¹ et dans le document du CLSI M29-A4².
- Jeter les réactifs inutilisés et les déchets conformément aux réglementations en vigueur (nationales, fédérales, locales, de la province et de l'État).
- Ne pas réutiliser.



STOCKAGE, MANIPULATION ET STABILITÉ DU PRODUIT

- Lorsqu'elles sont conservées entre 4 et 28 °C, les bandelettes de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strips sont stables dans leur emballage primaire jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du produit immédiatement lisible.
- Ne pas utiliser les consommables ou réactifs après la date de péremption indiquée.
- Ne pas utiliser de produit de test si l'emballage primaire ou secondaire est visiblement dégradé.
- Ne pas recharger de produit de test précédemment chargé sur un autre NeuMoDx System.
- Une fois chargée, la bandelette de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip peut rester sur le NeuMoDx System pendant 7 jours. Le logiciel suit la durée de vie restante des bandelettes de test chargées et l'indique à l'utilisateur en temps réel. Le système invite l'utilisateur à retirer toute bandelette de test dont l'utilisation a dépassé la durée autorisée.

PRÉLÈVEMENT, TRANSPORT ET STOCKAGE DES ÉCHANTILLONS

Manipuler tous les échantillons comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux.

1. Les échantillons doivent être prélevés dans les milieux Copan UTM-RT® System, BD™ UVT System ou Bio-VTM™ à l'aide d'écouvillons en nylon floqué approuvés (voir Écouvillons et milieux de transport). Les écouvillons floqués et les écouvillons en polyester ou en rayonne sont aussi compatibles. Suivre les instructions du fabricant pour le prélèvement, le transport et le stockage des échantillons.
2. Les échantillons peuvent être testés dans des tubes à échantillons primaires ou secondaires.
3. Il est possible de stocker les tubes à échantillon sur le NeuMoDx System pour une durée maximale de 8 heures avant leur traitement. Si vous devez les conserver plus longtemps, il est recommandé de placer les échantillons au réfrigérateur ou au congélateur sous forme d'aliquotes secondaires.
4. Les échantillons préparés doivent être conservés entre 2 et 8 °C pendant 7 jours maximum avant le test.
5. En cas de transport, les échantillons doivent être emballés et étiquetés conformément à la réglementation nationale et/ou internationale en vigueur.
6. Passer à la section *Préparation du test*.

MODE D'EMPLOI

Le NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay peut s'utiliser selon deux méthodes différentes, en fonction des préférences de l'utilisateur ou du laboratoire :

Méthode 1 : **DIRECTE** : les échantillons sur écouvillons dans leur milieu de transport sont chargés directement sur le NeuMoDx System dans des tubes de prélèvement primaires ou dans des tubes de prélèvement secondaires

– ou –

Méthode 2 : **AVEC PRÉTRAITEMENT** : les échantillons sur écouvillons dans leur milieu de transport sont prétraités avec le NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer avant leur chargement sur le NeuMoDx System dans des tubes de prélèvement primaires ou des tubes de prélèvement secondaires

Préparation du test : méthode DIRECTE pour les échantillons directs sur écouvillons

1. Appliquer une étiquette code-barres pour échantillon sur un tube à échantillon compatible avec le NeuMoDx System comme décrit dans l'étape 4 ci-dessous.
2. En cas de test du prélèvement dans le tube à prélèvement primaire, placer le tube identifié par application d'un code-barres dans un porte-tubes à prélèvement et veiller à ce que le bouchon et l'écouvillon soient retirés avant le chargement dans le NeuMoDx System.
3. Une autre possibilité consiste à utiliser un tube secondaire muni d'un code-barres, à y transférer une aliquote du milieu de transport puis à le placer dans un porte-tubes. En cas d'utilisation d'un tube secondaire, transférer une aliquote du milieu de transport dans un tube à prélèvement muni d'un code-barres compatible avec le NeuMoDx System conformément aux volumes indiqués ci-dessous :
4. *Pour les échantillons sur écouvillons :*
 - Porte-tubes à échantillon (32 tubes) : 11 à 14 mm de diamètre et 60 à 120 mm de hauteur ; volume de remplissage minimal $\geq 550 \mu\text{l}$
 - Porte-tubes à échantillon (24 tubes) : 14,5 à 18 mm de diamètre et 60 à 120 mm de hauteur ; volume de remplissage minimal $\geq 1000 \mu\text{l}$
 - Porte-tubes faible volume (32 tubes) : tube de microcentrifugation de 1,5 ml à fond conique ; volume de remplissage minimal $\geq 500 \mu\text{l}$

Préparation du test : méthode AVEC PRÉTRAITEMENT pour les échantillons sur écouvillons prétraités

Remarque : Porter le Vantage Viral Lysis Buffer à température ambiante (15 à 30 °C) avant de l'utiliser.

AVERTISSEMENT: *Le prétraitement des échantillons sur écouvillons avec le NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer ne garantit pas l'inactivation des virus présents. Manipuler tous les échantillons comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux.*

1. Prétraiter le milieu de transport de l'échantillon en ajoutant du NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer en proportions 1:1. Cela peut s'effectuer dans le tube à prélèvement par écouvillonnage primaire si le volume de milieu de transport est connu. Le prélèvement peut aussi être effectué dans un tube secondaire en mélangeant une aliquote du milieu de transport avec un volume équivalent de NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer. Le mélange obtenu doit satisfaire aux exigences de volume minimal spécifié ci-dessous.
2. Homogénéiser délicatement avec une pipette pour assurer l'uniformité de la distribution du NeuMoDx Vantage Viral Lysis Buffer.
3. Si l'échantillon prétraité est testé dans le tube à prélèvement primaire, placer le tube muni d'un code-barres dans un porte-tubes à prélèvement et veiller à ce que le bouchon et l'écouvillon soient retirés avant le chargement dans le NeuMoDx System.
4. En cas d'utilisation d'un tube secondaire, transférer une aliquote d'échantillon prétraité dans un tube de prélèvement à code-barres compatible avec le NeuMoDx System et le placer dans un porte-tubes en respectant les volumes définis ci-dessous :
 - Porte-tubes à échantillon (32 tubes) : 11 à 14 mm de diamètre et 60 à 120 mm de hauteur ; volume de remplissage minimal $\geq 700 \mu\text{l}$
 - Porte-tubes à échantillon (24 tubes) : 14,5 à 18 mm de diamètre et 60 à 120 mm de hauteur ; volume de remplissage minimal $\geq 1100 \mu\text{l}$
 - Porte-tubes faible volume (32 tubes) : tube de microcentrifugation de 1,5 ml à fond conique ; volume de remplissage minimal $\geq 650 \mu\text{l}$

Fonctionnement des NeuMoDx Systems

Pour des instructions détaillées, se reporter aux manuels d'utilisation des NeuMoDx™ 288 et 96 Molecular System (réf. n° 40600108 et 40600317)

1. Charger la commande de test sur le NeuMoDx System conformément à la méthode utilisée pour la préparation du test :
 - Les échantillons sur écouvillons non traités qui sont préparés à l'aide de la méthode DIRECTE sont testés en définissant chaque échantillon comme « **Transport Medium** » (Milieu de transport)
 - Les échantillons sur écouvillons prétraités avec VVLB selon la méthode AVEC PRÉTRAITEMENT sont testés en définissant chaque échantillon comme « **UserSpecified1** » (Spécifié par l'utilisateur 1)
2. Remplir un ou plusieurs supports de bandelettes de test pour NeuMoDx™ System avec une ou plusieurs bandelettes de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strips et utiliser l'écran tactile pour charger le ou les supports de bandelettes de test dans le NeuMoDx System.
3. À l'invite du logiciel du NeuMoDx™ System, ajouter les consommables nécessaires dans les supports de consommables du NeuMoDx System et utiliser l'écran tactile pour charger les supports dans le NeuMoDx System.
4. Le cas échéant, à l'invite du logiciel du NeuMoDx System, remplacer le NeuMoDx Wash Reagent et le NeuMoDx Release Reagent, vider les déchets d'amorçage, le récipient pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 288 Molecular System uniquement), la poubelle pour pointes à risque biologique (NeuMoDx 96 Molecular System uniquement) ou la poubelle pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 96 Molecular System uniquement).

5. Charger les tubes à échantillon dans un porte-tubes à échantillon en veillant à ce que les bouchons aient été retirés de tous les tubes.
6. Placer le ou les porte-tubes à échantillon sur la tablette du chargeur automatique et utiliser l'écran tactile pour les charger dans le NeuMoDx System. Cela déclenche le traitement des échantillons chargés pour les tests identifiés, à condition qu'une commande de test valide soit présente dans le système.

LIMITATIONS

1. La bandelette de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip ne peut être utilisée que sur les NeuMoDx Systems.
2. Les performances de la bandelette de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip ont été définies avec des échantillons d'écouillons nasopharyngés dans un milieu de transport collectés par des médecins. L'utilisation de la NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip avec d'autres sources n'a pas été évaluée et les caractéristiques de performance pour d'autres types d'échantillons ne sont pas connues.
3. Dans la mesure où la détection des cibles virales dépend généralement du nombre de particules virales présentes dans l'échantillon, l'obtention de résultats fiables dépend d'un échantillon, d'une manipulation et d'un stockage appropriés des échantillons.
4. La collecte, manipulation ou conservation inappropriée des échantillons, ainsi que les erreurs techniques ou les erreurs d'identification des tubes à échantillons, peut entraîner des résultats erronés. En outre, des faux négatifs peuvent être obtenus lorsque le nombre de particules virales dans l'échantillon est inférieur à la limite de détection du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay.
5. L'utilisation du NeuMoDx System est limitée au personnel formé à son utilisation.
6. Si les cibles de la grippe A, B, du VRS, du SARS-CoV-2 et du SPC2 ne sont pas amplifiées, un résultat non valide (Indeterminate [Indéterminé] ou Unresolved [Non résolu]) est rapporté et le test doit être répété.
7. Si une erreur système se produit avant la fin du traitement des échantillons, une erreur « No Result » (Aucun résultat) s'affichera et le test devra être répété.
8. Un résultat positif n'indique pas nécessairement la présence de virus viables de la grippe A, de la grippe B, du SARS-CoV-2 et/ou du virus respiratoire syncytial. Il laisse toutefois présager la présence d'ARN du virus de la grippe A, de la grippe B, du SARS-CoV-2 et/ou du virus respiratoire syncytial (A ou B).
9. Il est possible que la bandelette de test NeuMoDx™ Flu A-B/RSV/SARS-CoV2 Vantage Test Strip contienne des ingrédients inactifs pouvant influencer les mesures.
10. Les délétions ou les mutations dans les régions conservées ciblées par le NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay peuvent affecter la détection et entraîner un résultat erroné.
11. Les résultats du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay doivent être utilisés en complément des observations cliniques et autres informations à la disposition du médecin.
12. Il est recommandé d'observer les bonnes pratiques de laboratoire, comme le changement des gants entre chaque manipulation d'échantillons patient, afin d'éviter la contamination.

RÉSULTATS

Les résultats disponibles peuvent être consultés ou imprimés à partir de l'onglet « Results » (Résultats) de la fenêtre Results (Résultats) sur l'écran tactile du NeuMoDx System. Les résultats du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay sont générés automatiquement par le logiciel du NeuMoDx System à l'aide d'un algorithme décisionnel et des paramètres de traitement des résultats spécifiés dans le fichier de définition du test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage (Flu A-B-RSV SARS-CoV-2 ADF version 4.0.0 ou ultérieure). Un résultat de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay peut être rapporté Negative (Négatif), Positive (Positif), Indeterminate (Indéterminé) ou Unresolved (Non résolu) sur la base du statut d'amplification de la cible et du contrôle des processus de traitement de l'échantillon. Les résultats sont rapportés en fonction de l'algorithme de décision de l'ADF pour le traitement des résultats, qui est résumé ci-dessous dans le *Tableau 2*.

Tableau 2. Interprétation des résultats du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay

RÉSULTAT	Grippe A Cible	Grippe B Cible	VRS Cible	SARS-CoV-2 (cible)	CONTRÔLE DES PROCESSUS (SPC2)	Interprétation
POSITIVE (POSITIF)	Amplified (Amplifié)	N/A (S.o.)	N/A (S.o.)	N/A (S.o.)	N/A (S.o.)	ARN de la grippe A détecté
	N/A (S.o.)	Amplified (Amplifié)	N/A (S.o.)	N/A (S.o.)	N/A (S.o.)	ARN de la grippe B détecté
	N/A (S.o.)	N/A (S.o.)	Amplified (Amplifié)	N/A (S.o.)	N/A (S.o.)	ARN de VRS détecté
	N/A (S.o.)	N/A (S.o.)	N/A (S.o.)	Amplified (Amplifié)	N/A (S.o.)	ARN de SARS-CoV-2 détecté
NEGATIVE (NÉGATIF)	Not Amplified (Non amplifié)	Not Amplified (Non amplifié)	Not Amplified (Non amplifié)	Not Amplified (Non amplifié)	Amplified (Amplifié)	ARN de grippe A, grippe B, VRS et SARS-CoV-2 non détecté
NO RESULT* (AUCUN RÉSULTAT)	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Aborted (Non amplifié, erreur système détectée, traitement des échantillons abandonné)					Tous les résultats des cibles étaient non valides ; retester l'échantillon
IND*	Not Amplified, System Error Detected, Sample Processing Completed (Non amplifié, erreur système détectée, traitement des échantillons terminé)					Traitement des échantillons abandonné ; retester l'échantillon
UNR*	Not Amplified, No System Error Detected (Non amplifié, aucune erreur système détectée)					Tous les résultats des cibles étaient non valides ; retester l'échantillon

* Le système prévoit en option une capacité Rerun/Repeat (Réexécuter/répéter) pour permettre le retraitement automatique des résultats non valides afin de réduire les délais de transmission de ces résultats.

Résultats non valides

Si un NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay effectué sur le NeuMoDx System ne parvient pas à produire un résultat valide, ce résultat sera rapporté comme Indeterminate (Indéterminé), No Result (Aucun résultat) ou Unresolved (Non résolu), selon le type d'erreur qui s'est produit, et le test devra être répété pour obtenir un résultat valide.

Un résultat Indeterminate (Indéterminé) sera rapporté si une erreur du NeuMoDx System est détectée pendant le traitement de l'échantillon. Dans le cas d'un résultat Indeterminate (Indéterminé), il est recommandé de répéter le test.

Un résultat No Result (Aucun résultat) est rapporté si une erreur du NeuMoDx System est détectée et si le traitement de l'échantillon est abandonné. Dans le cas d'un résultat No Result (Aucun résultat), il est recommandé de répéter le test.

Un résultat Unresolved (Non résolu) est rapporté si aucune cible n'est détectée et s'il n'y a pas d'amplification du contrôle des processus de traitement d'échantillons, ce qui indique une possible défaillance des réactifs ou la présence d'inhibiteurs. En cas de résultat Unresolved (Non résolu), il est recommandé de d'abord répéter le test. Si la répétition du test échoue, il est possible d'utiliser un échantillon dilué afin d'atténuer les effets d'une inhibition éventuelle.

Voir le Manuel d'utilisation du NeuMoDx 288 Molecular System (n° de réf. : 40600108) ou le Manuel d'utilisation du NeuMoDx 96 Molecular System (n° de réf. : 40600317) pour consulter la liste des codes d'erreur pouvant être associés à des résultats non valides.

Contrôle de la qualité

Les réglementations locales précisent généralement qu'il incombe au laboratoire d'exécuter les procédures de contrôle permettant de vérifier l'exactitude et la précision de l'ensemble du processus d'analyse et qu'il doit établir le nombre, le type et la fréquence des produits de contrôle.

NeuMoDx Molecular, Inc. ne fournit pas de produits de contrôle. Les contrôles appropriés doivent être choisis et validés par le laboratoire. Noter que les contrôles doivent suivre les mêmes spécifications de volume minimal que les échantillons cliniques indiquées précédemment en fonction de la taille du porte-tubes à échantillon. Les produits de contrôle suivants sont recommandés :

- Contrôle positif (1 ml par contrôle) :
 - 5 µl RSV Rapid Control Pack (ZeptoMetrix, réf. n° : KZMC034)
 - 5 µl NATrol Influenza A/B Positive Control (ZeptoMetrix, réf. n° : MDZ046)
 - Heat-inactivated SARS-CoV-2 virus (virus SARS-CoV-2 inactivé par la chaleur) (ATCC, VR-1986HK) de concentration finale 1000 cp/ml
 - BD™ Universal Viral Transport Medium (UVT) ou équivalent pour un volume final de 1 ml

- Contrôle négatif : BD™ Universal Viral Transport Medium (UVT, BD, NJ) ou équivalent

Lors du traitement des contrôles définis par l'utilisateur, placer les contrôles étiquetés dans un porte-tubes à échantillon et utiliser l'écran tactile pour charger le porte-tubes dans le NeuMoDx System depuis la tablette du chargeur automatique. Une fois les contrôles définis (Voir Manuel d'utilisation du NeuMoDx 288 Molecular System (n° de réf. : 40600108) ou le Manuel d'utilisation du NeuMoDx 96 Molecular System (n° de réf. : 40600317)), le NeuMoDx System reconnaît les code-barres associés et déclenche automatiquement leur traitement comme contrôles.

En général, il est recommandé aux utilisateurs de procéder au traitement d'un jeu de contrôles positifs et négatifs toutes les 24 heures de fonctionnement du système avant de traiter des échantillons de patient.

Contrôles (internes) des processus de traitement d'échantillons

Un contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2) exogène est intégré à la NeuMoDx Extraction Plate, et il subit tout le processus d'extraction de l'acide nucléique et d'amplification par RT-PCR en temps réel avec chaque échantillon. Les amorces et la sonde spécifiques au contrôle du traitement de l'échantillon SPC2 sont également incluses à chaque NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip, cela permet de détecter le SPC2 avec l'ARN cible (le cas échéant) grâce à la PCR multiplexe. La détection de l'amplification de SPC2 permet au logiciel du NeuMoDx System de contrôler l'efficacité des processus d'extraction de l'ARN et de son amplification par PCR.

Avant la RT-PCR, le NeuMoDx System effectue automatiquement un « FILL CHECK » (VÉRIFICATION DU REMPLISSAGE) pour vérifier que la chambre de PCR est remplie de solution et contient une quantité adéquate de sonde fluorescente.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay sur les NeuMoDx Molecular Systems a été caractérisée en deux parties. Tout d'abord, une série de dilutions utilisant des souches modèles de chaque cible dans l'UVT ont été préparées selon la méthode avec prétraitement, puis traitées par le NeuMoDx System afin de déterminer une valeur préliminaire pour la limite de détection (LoD). Dans la deuxième partie du test, cette valeur préliminaire de LoD a été confirmée par une étude du taux de succès sur les deux NeuMoDx 288 et NeuMoDx 96 Molecular Systems pour les deux méthodes. La LoD préliminaire a été acceptée si l'étude du taux de succès rapportait un taux de positivité de 95 % pour les deux méthodes sur les deux systèmes. Les taux de détection de la LoD préliminaire sont présentés dans le *Tableau 3* tandis que les *Tableau 4* et *Tableau 5* détaillent la confirmation des taux de succès du système N288 et du système N96 respectivement.

Tableau 3. Taux de détection positifs pour la détermination de la LoD préliminaire du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay

Cible/Souche	Concentration	Unité	Nbre de résultats valides	Nbre de positifs	% détection	
Grippe A, Singapour/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5	DICT ₅₀ /ml	10	10	100 %	
	0,25		10	9	90,0 %	
Grippe A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5		10	10	100 %	
	0,25		10	8	80,0 %	
Grippe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,25		10	10	100 %	
	0,05		10	10	100 %	
	0,01		8	8	100 %	
Grippe B, Floride/78/2015 (Yamagata)	0,25		10	10	100 %	
	0,1		10	9	90,0 %	
VRS A2	0,5		9	9	100 %	
	0,25		9	8	88,9 %	
VRS B (WV/14617/85)	0,25		10	10	100 %	
	0,05		9	9	100 %	
SARS-CoV-2, Isolat États-Unis-WA1/2020	300		copies/ml	10	10	100 %
	200			10	10	100 %
	150			10	10	100 %
	100	10		7	70,0 %	

Tableau 4. Taux de détection positifs pour la confirmation des taux de succès de la LoD du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay – N288, (a) Méthode avec prétraitement ; (b) Méthode directe

(a) Méthode avec prétraitement

Cible/Souche	Concentration	Nbre de résultats valides	Nbre de positifs	% détection
Grippe A, Singapour/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 DICT ₅₀ /ml	24	24	100 %
Grippe A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 DICT ₅₀ /ml	23	23	100 %
Grippe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 DICT ₅₀ /ml	24	24	100 %
Grippe B, Floride/78/2015 (Yamagata)	0,25 DICT ₅₀ /ml	24	24	100 %
VRS A2	0,5 DICT ₅₀ /ml	21	20	95,2 %
VRS B (WV/14617/85)	0,25 DICT ₅₀ /ml	22	22	100 %
SARS-CoV-2, Isolat États-Unis-WA1/2020	150 copies/ml	23	23	100 %
SARS-CoV-2, Isolat Italie-INMI1	150 copies/ml	23	23	100 %

(b) Méthode directe

Cible/Souche	Concentration	Nbre de résultats valides	Nbre de positifs	% détection
Grippe A, Singapour/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 DICT ₅₀ /ml	24	24	100 %
Grippe A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 DICT ₅₀ /ml	24	24	100 %
Grippe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 DICT ₅₀ /ml	24	23	95,8 %
Grippe B, Floride/78/2015 (Yamagata)	0,25 DICT ₅₀ /ml	24	24	100 %
VRS A2	1 DICT ₅₀ /ml	24	24	100 %
VRS B (WV/14617/85)	0,05 DICT ₅₀ /ml	24	24	100 %
SARS-CoV-2, Isolat États-Unis-WA1/2020	250 copies/ml	23	22	95,7 %
SARS-CoV-2, Isolat Italie-INMI1	250 copies/ml	23	23	100 %

Tableau 5. Taux de détection positifs pour la confirmation des taux de succès de la LoD du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay – N96, (a) Méthode avec prétraitement ; (b) Méthode directe

(a) Méthode avec prétraitement

Cible/Souche	Concentration	Nbre de résultats valides	Nbre de positifs	% détection
Grippe A, Singapour/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 DICT ₅₀ /ml	24	23	95,8 %
Grippe A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 DICT ₅₀ /ml	22	21	95,5 %
Grippe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 DICT ₅₀ /ml	24	23	95,8 %
Grippe B, Floride/78/2015 (Yamagata)	0,25 DICT ₅₀ /ml	24	24	100 %
VRS A2	0,5 DICT ₅₀ /ml	22	22	100 %
VRS B (WV/14617/85)	0,25 DICT ₅₀ /ml	23	23	100 %
SARS-CoV-2, Isolats États-Unis-WA1/2020	150 copies/ml	23	22	95,7 %
SARS-CoV-2, Isolats Italie-INMI1	150 copies/ml	22	21	95,5 %

(b) Méthode directe

Cible/Souche	Concentration	Nbre de résultats valides	NBRE POS	% détection
Grippe A, Singapour/INIFMIH-16-0019/2016 (H3N2)	0,5 DICT ₅₀ /ml	24	23	95,8 %
Grippe A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	0,5 DICT ₅₀ /ml	23	23	100 %
Grippe B, Colorado/6/2017 (Victoria)	0,01 DICT ₅₀ /ml	24	24	100 %
Grippe B, Floride/78/2015 (Yamagata)	0,25 DICT ₅₀ /ml	24	23	95,8 %
VRS A2	1 DICT ₅₀ /ml	22	22	100 %
VRS B (WV/14617/85)	0,05 DICT ₅₀ /ml	23	23	100 %
SARS-CoV-2, Isolats États-Unis-WA1/2020	250 copies/ml	23	22	95,7 %
SARS-CoV-2, Isolats Italie-INMI1	250 copies/ml	23	22	95,7 %

Ces concentrations, acceptées comme valeurs de la LoD pour le NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay sur les NeuMoDx Systems, sont résumées dans le *Tableau 6*. La limite de détection annoncée du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay est de 0,5 DICT₅₀/ml pour la grippe A, 0,25 DICT₅₀/ml pour la grippe B, 1,0 DICT₅₀/ml pour VRS A et 0,05 DICT₅₀/ml pour VRS B.

Tableau 6. Résumé de l'étude sur la limite de détection

Cible	Souche	Limite de détection		
		Méthode avec prétraitement	Méthode directe	Unité
Grippe A – H3N2	Singapour/INIFMIH-16-0019/2016	0,5	0,5	DICT ₅₀ /ml
Grippe A – H1N1	Michigan/272/2017 pdm09	0,5	0,5	
Grippe B – lignée Victoria	Colorado/6/2017	0,01	0,01	
Grippe B – lignée Yamagata	Floride/78/2015	0,25	0,25	
VRS A	A2	0,25	1	
VRS B	(WV/14617/85)	0,05	0,05	
SARS-CoV-2	Isolats États-Unis-WA1/2020	150	250	copies/ml

Interférence compétitive sur la détection du SARS-CoV-2

La sensibilité analytique du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay a été évaluée dans le contexte d'une co-infection artificielle au SARS-CoV-2 et à l'une des trois autres cibles, grippe A, grippe B ou VRS. Ce scénario a été évalué avec des échantillons préparés en diluant le SARS-CoV-2 inactivé par la chaleur avec une matrice sur écouvillon présélectionnée négative à 1X LoD et en présence des cibles de la grippe A, grippe B et/ou du VRS à des concentrations $\geq 3 \text{ Log}_{10}$ DICT₅₀/ml de leurs LoD respectives. La présence d'un titre viral élevé de grippe A, de grippe B, de VRS A ou de VRS B n'a pas eu d'incidence négative sur le taux de détection du SARS-CoV-2 à la LoD, *Tableau 7*.

Tableau 7. Résumé de l'étude d'interférence compétitive

Échantillon	n	SARS-CoV-2			Grippe A, grippe B, VRS A ou VRS B		
		% positifs	Ct moy.	ÉT	% positifs	Ct moy.	ÉT
SARS-CoV-2 / Grippe A	24	96 %	33,53	0,42	100 %	25,22	0,53
SARS-CoV-2 / Grippe B	24	96 %	34,01	0,72	100 %	24,43	0,46
SARS-CoV-2 / VRS A	24	100 %	33,76	0,44	100 %	19,47	0,69
SARS-CoV-2 / VRS B	24	100 %	33,84	0,43	100 %	20,55	0,62

Réactivité analytique et inclusivité

La réactivité du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay a été évaluée par rapport à celle de nombreuses souches ou isolats des virus de la grippe A, la grippe B, du virus respiratoire syncytial et du SARS-CoV-2. Les souches ou isolats viraux ont été testés en 20 réplicats au minimum. Un total de 24 souches de grippe A, 6 souches de grippe B, 3 isolats de VRS A, 2 isolats de VRS B et 4 isolats de SARS-CoV-2 ont été testés, *Tableau 8.*

Tableau 8. Souches testées de grippe A, grippe B, VRS A, VRS B et SARS-CoV-2

Cible	Souche	Concentration	% Pos	
Grippe A	H1N1	Brisbane/02/2018	1 DICT ₅₀ /ml	95,5 %
		Californie/07/2009	1 DICT ₅₀ /ml	100 %
		Californie/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09	18 DICT ₅₀ /ml	95,5 %
		Louisiane/08/2013 pdm 09, souche de référence AVR, M2 : S31N, NA : H275Y	8 DICT ₅₀ /ml	100 %
		New York/18/2009 (H1N1)pdm09	6 DICT ₅₀ /ml	100 %
		Guangdong-Moanan/SWL 1536/2019	1 DICT ₅₀ /ml	100 %
	H2N2	A2/Japon/305/57	32,6 pg/ml	100 %
		Corée/426/68 (HA, NA) x A/PR/8/34	6,25 pg/ml	100 %
	H3N2	Hong Kong/4801/2014	0,5 DICT ₅₀ /ml	100 %
		Hong Kong/2671/2019	0,5 DICT ₅₀ /ml	100 %
		Suisse/9715293/2013	0,5 DICT ₅₀ /ml	100 %
		Kansas/14/2017 (H3N2)	8 DICT ₅₀ /ml	100 %
		Texas/50/2012 (H3N2)	4 DICT ₅₀ /ml	100 %
		Wisconsin/15/2009 (H3N2)	0,5 DICT ₅₀ /ml	95,5 %
	H5N1 - H5N3	Poulet/Viêt Nam/NCVD-016/2008(H5N1)-PR8-IDCDC-RG12	1:50 000*	100 %
		Égypte/N03072/2010(H5N1)-PR8-IDCDC-RG29	1:100 000*	100 %
		Hubei/1/2010(H5N1)-PR8-IDCDC-RG30	1:10,000*	100 %
		Canard/Pennsylvanie/10218/84 (H5N2)	2,55 pg/ml	100 %
		Faisan/New Jersey/1355/1998 (H5N2)- PR8-IBCDC-4	1:50 000*	100 %
		Canard/Singapour/645/97 (H5N3) V-331-0E5-271	24,8 pg/ml	100 %
H7N2, H7N7, H7N9	A/dinde/Virginie/4529/2002 (H7N2) x PR8-IBCDC-5	1:100 000*	95,5 %	
	A/colvert/Pays-Bas/12/2000(H7N7)/PR8-IBCDC-1, ARN génomique	1:100 000*	100 %	
	A/Anhui/1/2013 (H7N9)	1:100 000*	100 %	
H10N7	A/poussin/Allemagne/N/49 (H10N7)	68 pg/ml	100 %	
Grippe B	Victoria	Brisbane/60/2008	1 DICT ₅₀ /ml	100 %
	Victoria	Malaisie/2506/2004	3 DICT ₅₀ /ml	100 %
	Yamagata	Phuket/3703/2013	0,5 DICT ₅₀ /ml	95,2 %
	N/A (S.o.)	Virginie/ATCC5/2012	0,02 pfu/ml	100 %
	Victoria	Washington/02/2019	5 DICT ₅₀ /ml	100,0 %

Cible	Souche		Concentration	% Pos
	Yamagata	Wisconsin/1/2010	0,05 CEID ₅₀ /ml	95,5 %
VRS	VRS A	A (longue)	2 pfu/ml	95,5 %
		A2001/3-12	8 DICT ₅₀ /ml	95,5 %
		A2001/2-20	8 DICT ₅₀ /ml	100 %
	VRS B	B, 9320	0,1 pfu/ml	100 %
		B1	4 DICT ₅₀ /ml	100 %
SARS-CoV-2		États-Unis-IL1/2020	250 cp/mL	95,5 %
		États-Unis-AZ1/2020	250 cp/mL	100 %
		États-Unis-CA3/2020	250 cp/mL	100 %
		Hong Kong/VM20001061/2020	250 cp/mL	100 %

La réactivité du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay lors de la détection de plusieurs isolats cliniques du SARS-CoV-2 a été démontrée en effectuant une analyse *in silico* avec les amorces et les sondes du test sur toutes les séquences disponibles dans GenBank (au 12 août 2020) à l'aide de l'outil Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) proposé par le NCBI. Les résultats montrent que les amorces et la sonde pour le SARS-CoV-2 présentent une homologie de 100 % avec plus de 98 % des séquences. Globalement, les sondes et amorces ont une homologie >95 % avec toutes les séquences analysées.

Reproductibilité inter-lots

La reproductibilité d'un lot à l'autre du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay a été vérifiée par une analyse rétrospective des données générées par les tests de qualification réalisés par trois opérateurs sur trois NeuMoDx Systems, sur trois jours non consécutifs, pour trois lots de bandelettes de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strips fabriqués selon les bonnes pratiques de fabrication. Le milieu de transport viral universel (UVT) a été enrichi de 2,0 DICT₅₀/mL d'une souche représentative de la grippe A et de la grippe B, et du VRS, en plus de l'ARN génomique du SARS-CoV-2 enrichi à 500 copies/ml. L'écart-type des valeurs de Ct des trois lots – pris individuellement ou ensemble – des bandelettes de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay était ≤ 1,1 avec des coefficients de variation (CV) ≤ 3,5 % pour toutes les cibles, démontrant ainsi une excellente reproductibilité, *Tableau 9*.

Tableau 9. Reproductibilité de trois lots de bandelettes de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strips

N° de lot	Flu A 2,0 DICT ₅₀ /ml			Flu B 2,0 DICT ₅₀ /ml			SARS-CoV-2 (500 copies/ml)			RSV 2,0 DICT ₅₀ /ml			Contrôle des processus de traitement de l'échantillon 2 (SPC2)		
	Ct moy.	ÉT de Ct	% CV	Ct moy.	ÉT de Ct	% CV	Ct moy.	ÉT de Ct	% CV	Ct moy.	ÉT de Ct	% CV	Ct moy.	ÉT de Ct	% CV
10499X	32,74	0,56	1,7 %	32,46	1,10	3,4 %	32,35	1,02	3,2 %	30,95	0,92	3,0 %	26,21	0,43	1,6 %
10508X	31,73	0,57	1,8 %	32,11	0,56	1,8 %	32,70	0,48	1,5 %	31,02	0,37	1,2 %	25,88	0,73	2,8 %
10519X	32,61	0,41	1,3 %	32,38	0,27	0,8 %	32,71	0,73	2,2 %	31,03	0,23	0,7 %	26,27	0,29	1,1 %
Sur les trois lots	32,35	0,69	2,1 %	32,31	0,74	2,3 %	32,59	0,78	2,4 %	31,00	0,58	1,9 %	26,12	0,54	2,1 %

Performances cliniques

Les caractéristiques de performance clinique du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay ont été déterminées à l'aide d'une étude comparative interne des méthodes rétrospectives portant sur des échantillons résiduels d'écouvillons nasopharyngés (NP) provenant de deux laboratoires cliniques implantés dans des zones géographiques différentes.

Des échantillons sur écouvillon nasopharyngé résiduels de patients symptomatiques ont été désidentifiés et se sont vu attribuer un numéro d'identification unique par les laboratoires cliniques, et une liste confidentielle reliant l'identifiant patient aux échantillons désidentifiés testés a été établie aux fins de l'étude. Sur les 215 échantillons individuels sur écouvillon NP testés avec la méthode directe et la méthode avec prétraitement (439 résultats valides générés au total), 30 échantillons ont été identifiés par les laboratoires cliniques comme positifs à la grippe A, 30 à la grippe B, 30 au VRS A/B (non différencié) et 30 au SRAS-CoV-2. En outre, 50 échantillons individuels ont été identifiés par les laboratoires cliniques comme négatifs pour les cibles de la grippe A, de la grippe B et du VRS, et 50 autres échantillons individuels ont été identifiés comme négatifs pour le SRAS-CoV-2. Le résultat du test pour ces échantillons n'a pas été communiqué à l'opérateur, de sorte que l'étude effectuée soit une « étude en simple aveugle ». Chaque échantillon a été analysé pour chaque cible et pour chaque méthode utilisée pour tester l'échantillon. Les résultats exploités pour l'analyse de comparaison des méthodes avaient été rapportés par des appareils d'analyse moléculaire spécifiques homologués par la FDA et portant le marquage CE utilisés par les laboratoires pour effectuer des tests dans le respect de la norme de référence en matière de soins.

Les résultats du test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay ont montré une sensibilité et une spécificité cliniques de 100 % pour les deux méthodes pour la cible de la grippe A (*Tableau 10A*). Les résultats pour la cible de la grippe B ont montré une sensibilité et une spécificité cliniques de 96,7 % et 98 %, respectivement, pour les deux méthodes. (*Tableau 10B*). Les résultats obtenus sur la cible du VRS (non différencié) ont généré une sensibilité clinique de 100 % avec les deux méthodes, tandis que la spécificité clinique était de 98 % avec la méthode directe et de 100 % avec la méthode avec prétraitement (*Tableau 10C*). Les résultats pour la cible du SARS-CoV-2 ont montré une sensibilité et une spécificité cliniques de 100 % et 98 %, respectivement, pour les deux méthodes (*Tableau 10D*). Les limites inférieure et supérieure des intervalles de confiance à 95 % présentées dans les Tableaux 10A, 10B, 10C et 10D ci-dessous ont été calculées à l'aide de la procédure de Wilson avec correction de la continuité.

Tableau 10A. Synthèse des performances cliniques – Bandelettes de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip : Détection de la **grippe A** (a) Méthode directe et (b) Méthode avec prétraitement

(a) Méthode directe

Grippe A		Résultat des tests de référence homologués FDA/CE		
		POS	NÉG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	29	0	29
	NÉG	0	50	50
	Total	29	50	79
Sensibilité clinique (grippe A) = 100 % (85,4 %– 100 %)				
Spécificité clinique (grippe A) = 100 % (91,1 %– 100 %)				

(b) Méthode avec prétraitement

Grippe A		Résultat des tests de référence homologués FDA/CE		
		POS	NÉG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	0	30
	NÉG	0	50	50
	Total	30	50	80
Sensibilité clinique (grippe A) = 100 % (85,9 %– 100 %)				
Spécificité clinique (grippe A) = 100 % (91,1 %– 100 %)				

Tableau 10B. Synthèse des performances cliniques – Bandelettes de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip : Détection de la **grippe B** (a) Méthode directe et (b) Méthode avec prétraitement

(a) Méthode directe

Grippe B		Résultat des tests de référence homologués FDA/CE		
		POS	NÉG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	29	1	30
	NÉG	1	49	50
	Total	30	50	80
Sensibilité clinique (grippe B) = 96,7 % (80,9 %– 99,8 %)				
Spécificité clinique (grippe B) = 98,0 % (88,0 %– 99,9 %)				

(b) Méthode avec prétraitement

Grippe B		Résultat des tests de référence homologués FDA/CE		
		POS	NÉG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	29	1	30
	NÉG	1	49	50
	Total	30	50	80
Sensibilité clinique (grippe B) = 96,7 % (80,9 %– 99,8 %)				
Spécificité clinique (grippe B) = 98,0 % (88,0 %– 99,9 %)				

Tableau 10C. Synthèse des performances cliniques – Bandelettes de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip : Détection de VRS A/B par (a) Méthode directe et (b) Méthode avec prétraitement

(a) Méthode directe

VRS A/B		Résultat des tests de référence homologués FDA/CE		
		POS	NÉG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	1	31
	NÉG	0	49	49
	Total	30	50	80
Sensibilité clinique (VRS A/B) = 100 % (85,9 %– 100 %)				
Spécificité clinique (VRS A/B) = 98,0 % (87,9 %– 99,9 %)				

(b) Méthode avec prétraitement

VRS A/B		Résultat des tests de référence homologués FDA/CE		
		POS	NÉG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	0	30
	NÉG	0	50	50
	Total	30	50	80
Sensibilité clinique (VRS A/B) = 100 % (85,9 %– 100 %)				
Spécificité clinique (VRS A/B) = 100 % (91,1 %– 100 %)				

Tableau 10D. Synthèse des performances cliniques – Bandelettes de test NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Test Strip : Détection de SARS-CoV-2 par (a) Méthode directe et (b) Méthode avec prétraitement

(a) Méthode directe

SARS-CoV-2		Résultat des tests de référence homologués FDA/CE		
		POS	NÉG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	1	31
	NÉG	0	49	49
	Total	30	50	80
Sensibilité clinique (SARS-CoV-2) = 100 % (85,9 %– 100 %)				
Spécificité clinique (SARS-CoV-2) = 98,0 % (87,9 %– 99,9 %)				

(b) Méthode avec prétraitement

SARS-CoV-2		Résultat des tests de référence homologués FDA/CE		
		POS	NÉG	Total
NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2	POS	30	1	31
	NÉG	0	49	49
	Total	30	50	80
Sensibilité clinique (SARS-CoV-2) = 100 % (85,9 %– 100 %)				
Spécificité clinique (SARS-CoV-2) = 98,0 % (87,9 %– 99,9 %)				

Spécificité analytique et réactivité croisée

La spécificité analytique du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage assay a été évaluée en testant un panel de 47 organismes, dont 22 virus, 24 bactéries et une souche de levure, représentant des pathogènes et des membres de la flore microbienne fréquemment rencontrés dans les voies respiratoires. Les bactéries et les levures ont été testées à des concentrations ~6E6 UFC/ml ou UFI/ml, sauf mention contraire. Les virus ont été testés à des concentrations variant de 1E5 à 1E6 DICT50/ml ou copies/ml, sauf mention contraire. La spécificité analytique du NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage assay a atteint 100 % pour la grippe A, la grippe B, le VRS A, VRS B et le SARS-CoV-2.

Tableau 11. Résultats de spécificité analytique

Organisme	Concentration	Grippe A	Grippe B	VRS A	VRS B	SARS-CoV-2
Adénovirus de type 1	1E6 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Adénovirus de type 7	1E6 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Bordetella pertussis I176	10 ng/ml	-	-	-	-	-
Candida albicans	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Chlamydia pneumoniae	6E6 UFI/ml	-	-	-	-	-
Corynebacterium xerosis	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
EBV	1E6 copies/ml	-	-	-	-	-
Escherichia coli	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Hemophilus influenzae	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
HHV 6A	1E6 copies/ml	-	-	-	-	-
HHV 7	1E6 copies/ml	-	-	-	-	-
HHV8	1E6 copies/ml	-	-	-	-	-
HSV-1	1E6 copies/ml	-	-	-	-	-
HSV2	1E6 copies/ml	-	-	-	-	-
Coronavirus humain 229E	1E5 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Coronavirus humain HKU1	1E6 copies/ml	-	-	-	-	-
Coronavirus humain NL63	1E5 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Coronavirus humain OC43	5E3 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Entérovirus humain 68	1E6 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Métapneumovirus humain	1E6 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Parainfluenza humain de type 1	1E5 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Parainfluenza humain de type 2	1E5 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Parainfluenza humain de type 3	1E6 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Rhinovirus humain de type 1A	1E5 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Lactobacillus acidophilus	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Lactobacillus brevis	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Lactobacillus jensoni	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Lactobacillus lactis	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Legionella pneumophila	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Rougeole	1E5 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Coronavirus MERS EMC/2012	0,5 ng/ml	-	-	-	-	-
Moraxella catarrhalis	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Virus des oreillons	1E5 DICT ₅₀ /ml	-	-	-	-	-
Mycobacterium tuberculosis	10 ng/ml	-	-	-	-	-
Mycoplasma pneumoniae	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Neisseria gonorrhoeae	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis, Séro A	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis, Séro B	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis, Séro C	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis, Séro D	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Coronavirus SRAS	1E6 ufp/ml	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus	1E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Staphylococcus epidermidis	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Streptococcus pneumoniae	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Streptococcus pyogenes	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Streptococcus salivarius	6E6 UFC/ml	-	-	-	-	-
Grippe A, Michigan/272/2017 pdm09 (H1N1)	3 × LoD	+	-	-	-	-
Grippe B, Floride/78/2015 (Yamagata)	3 × LoD	-	+	-	-	-
VRS A, A2	3 × LoD	-	-	+	-	-
VRS B (WV/14617/85)	3 × LoD	-	-	-	+	-
SARS-CoV-2, États-Unis-WA1/2020	3 × LoD	-	-	-	-	+
Contrôle négatif (pas de pathogènes)	N/A (S.o.)	-	-	-	-	-

Substances interférentes — Organismes commensaux

L'interférence potentielle d'organismes non cibles (éventuellement présents dans les voies respiratoires supérieures) avec le NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay a été explorée en évaluant la performance du test à faibles concentrations (env. 3X LoD) de virus de la grippe A, de la grippe B, du VRS A, VRS B et du SARS-CoV-2 en présence de fortes concentrations en organismes répertoriés dans le *Tableau 11* ci-dessus. Aucune interférence nuisant à la détection n'a été observée avec ces organismes commensaux.

Substances interférentes – Endogènes/Exogènes

Le NeuMoDx Flu A-B/RSV/SARS-CoV-2 Vantage Assay a été évalué en termes de susceptibilité aux interférences causées par des substances potentiellement associées à la collecte d'échantillons nasopharyngés sur écouvillons. Des échantillons par écouvillonnage NP (nasopharyngé) cliniques négatifs résiduels ont été enrichis individuellement avec les cibles de grippe A, grippe B, VRS A, VRS B ou SARS-CoV-2 à une concentration de 3 fois la LoD, puis traités en présence et en absence des agents indiqués dans le *Tableau 12*. Aucune des substances testées n'a présenté d'effet indésirable sur les performances du test, pour aucune des cibles.

Tableau 12. Substances testées pour évaluer les interférences

	Substance	Description/Principe actif	Concentration*
Exogène	Néo-Synéphrine	Phényléphrine	15 % V/V
	Spray nasal Afrin	Oxymétazoline	15 % M/V
	Spray nasal Saline	Sodium chloride avec conservateurs	15 % V/V
	Spray nasal Zicam	Luffa operculata, Galphimia glauca, Histaminum hydrochloricum, Soufre	15 % V/V
	Corticostéroïde nasal – Flonase	Fluticasone	5 % v/v
	Corticostéroïde nasal – Rhinocort	Budesonide	5 % v/v
	Corticostéroïde nasal – Nasacort	Triamcinolone	5 % v/v
	Corticostéroïde nasal – Dexaméthasone	Dexaméthasone	10 mg/mL
	Corticostéroïde nasal – Mometasone	Mometasone	10 mg/mL
	Corticostéroïde nasal– Béclométhasone	Béclométhasone	10 mg/mL
	Chloraseptic, pastilles pour la gorge	Benzocaïne, menthol	2 mg/ml
	Antibiotique, pommade nasale	Mupirocine	10 mg/mL
	Relenza, médicament antiviral	Zanamivir	7,5 mg/ml
	Tamiflu, médicament antiviral	Osetamivir	25 mg/ml
Antibiotique, systémique	Tobramycine	1,5 mg/ml	
Endogène	Mucine	Protéine mucine purifiée	2,5 % p/v
	Sang humain	Sang	2 % v/v

*Remarque : les concentrations indiquées sont celles utilisées pour saturer les écouvillons avant le mélange des échantillons cliniques positifs artificiels avec les substances interférentes. Elles sont donc représentatives de la concentration qui peut être tolérée au site de prélèvement de l'écouvillon.

RÉFÉRENCES

- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th edition. HHS Publication No. (CDC) 21-1112, Revised December 2009.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline – Fourth Edition. CLSI document M29-A4; May 2014.

MARQUES COMMERCIALES

BD™ est une marque commerciale de Becton, Dickinson and Company

Bio VTM™ est une marque commerciale de Biologos, LLC.

Hamilton® est une marque déposée d'Hamilton Company

Minitip Nylon® est une marque déposée de Copan Diagnostics, Inc.

NeuMoDx™ et NeuDry™ sont des marques commerciales de NeuMoDx Molecular, Inc. TaqMan® est une marque déposée de Roche Molecular Systems, Inc.

UTM-RT® est une marque déposée de Copan Diagnostics, Inc.

Tous les autres noms de produits, marques commerciales et marques déposées pouvant figurer dans ce document appartiennent à leurs propriétaires respectifs.

LÉGENDE DES SYMBOLES

R only	Sur ordonnance uniquement		Limite de température
	Fabricant		Ne pas réutiliser
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Contient des éléments suffisants pour <n> tests
	Représentant autorisé au sein de la Communauté européenne		Consulter le mode d'emploi
	Numéro de référence		Attention
	Code de lot		Risques biologiques
	À utiliser avant		Marquage CE



NeuMoDx Molecular, Inc.
1250 Eisenhower Place
Ann Arbor, MI 48108, USA

+1 888 301 NMDX (6639)
support@qiagen.com

Sponsor (AUS):
QIAGEN Pty Ltd
Level 2 Chadstone Place
1341 Dandenong Rd
Chadstone VIC 3148
Australia



Emergo Europe B.V.
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands



Pour signaler un problème lié à la vigilance : support@qiagen.com

Brevet : www.neumodx.com/patents