

REF 300800 NeuMoDx™ SARS-CoV-2 Test Strip**R only**

ATTENTION : pour exportation aux États-Unis uniquement

IVD Pour une utilisation prévue pour le diagnostic *in vitro* avec les NeuMoDx 288 et NeuMoDx 96 Molecular Systems*Pour 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. 40600108 [RÉF 500100]**Pour des instructions détaillées, se reporter au Manuel d'utilisation du NeuMoDx 96 Molecular System ; réf. 40600317 [RÉF 500200] ou réf. 40600655 [RÉF 500201]**Pour des instructions détaillées, se reporter au mode d'emploi du NeuMoDx Saliva Collection Kit ; réf. 40600441*

UTILISATION PRÉVUE

Le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay effectué sur le NeuMoDx 288 Molecular System et le NeuMoDx 96 Molecular System (NeuMoDx Molecular Systems) est un test diagnostique de RT-PCR en temps réel conçu pour la détection qualitative de l'ARN du coronavirus SARS-CoV-2 dans les échantillons prélevés soit par écouvillonnage nasal, nasopharyngé ou oropharyngé en milieu de transport, soit par lavage bronchoalvéolaire (LBA) et provenant de patients suspectés d'infection au COVID-19 par un professionnel de santé.

Ce test est aussi conçu pour une utilisation avec les échantillons de salive collectés dans un cadre médical à l'aide du NeuMoDx Saliva Collection Kit lorsqu'un professionnel de santé le juge nécessaire.

Ses résultats sont destinés à l'identification de l'ARN du SARS-CoV-2. L'ARN du SARS-CoV-2 est généralement détectable dans les échantillons prélevés dans les voies respiratoires supérieures pendant la phase aiguë de l'infection. Les résultats positifs indiquent la présence d'ARN de SARS-CoV-2. La corrélation clinique avec les antécédents des patients et les autres informations diagnostiques est nécessaire pour déterminer le statut de leur infection. Les résultats positifs n'excluent pas la possibilité d'une infection bactérienne ou d'une co-infection par d'autres virus. Les laboratoires des États-Unis et de ses territoires sont tenus de rapporter tous les résultats positifs aux autorités de santé publique compétentes.

Les résultats négatifs n'excluent pas la possibilité d'une infection à SARS-CoV-2 et ne doivent pas constituer le seul critère de décision pour la prise en charge des patients. Les résultats négatifs doivent être combinés avec les observations cliniques, les antécédents des patients et les informations épidémiologiques. Les résultats négatifs pour l'ARN de SARS-CoV-2 dans la salive doivent être confirmés en testant un autre type d'échantillon si cela est cliniquement indiqué.

Le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay est conçu pour être utilisé par du personnel de laboratoire clinique qualifié et spécialement formé aux techniques de PCR en temps réel et de procédures diagnostiques *in vitro*.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Les écouvillons nasaux, nasopharyngés ou oropharyngés sont collectés à l'aide du Copan Universal Transport Medium (UTM-RT®) System ou du BD™ Universal Viral Transport System (UVT). Pour préparer le test, le tube de prélèvement d'échantillons primaire (une fois l'écouvillon et le bouchon retirés), une aliquote du milieu de l'échantillon non traité ou une aliquote du milieu de transport prétraité avec le NeuMoDx Viral Lysis Buffer dans un tube à échantillon secondaire est identifié par application d'un code-barres puis chargé dans le NeuMoDx System à l'aide d'un porte-tubes à échantillon dédié. Ensuite, le traitement démarre automatiquement. Pour chaque échantillon, une aliquote de 400 µl est aspirée par le NeuMoDx System et mélangée avec du NeuMoDx Lysis Buffer 3 (échantillons directs) ou du NeuMoDx Lysis Buffer 2 (échantillons prétraités).

Les échantillons de salive sont collectés dans le NeuMoDx Saliva Collection Kit conformément au mode d'emploi (réf. 40600441). Pour préparer le test, la salive collectée est transférée du NeuMoDx Saliva Collection Vial au NeuMoDx Specimen Stabilization Tube à l'aide de la pipette de transfert de façon à obtenir un rapport salive/SSB de 1:1,67 (v/v). La salive et le tampon de stabilisation doivent être mélangés soigneusement en retournant le flacon 5 à 8 fois. La salive stabilisée peut être testée directement sur le NeuMoDx System ou conservée pour une utilisation ultérieure.

Le NeuMoDx 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 transcription inverse (RT-PCR) et, s'ils sont présents, amplifier et détecter les produits d'amplification : le gène de la protéine non structurale 2 (non-structural protein 2, NSP2) et le gène N du génome de SARS-CoV-2. Le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay inclut un contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control 2, 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 SARS-CoV-2 Assay associe l'extraction automatisée de l'ARN avec l'amplification/détection par RT-PCR en temps réel. Les échantillons nasaux, nasopharyngés ou oropharyngés sur écouvillons sont collectés dans le Copan UTM-RT System ou le BD UVT System. Les échantillons de salive sont collectés dans le NeuMoDx Saliva Collection Kit. Il existe deux méthodes pour la préparation des échantillons sur écouvillons avec le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. La méthode directe permet le chargement sur le NeuMoDx System d'un tube de prélèvement par écouvillonnage ou d'une aliquote du milieu de transport dans un tube secondaire pour leur traitement subséquent, sans intervention supplémentaire de l'opérateur. Une autre méthode consiste à prétraiter le milieu de l'échantillon sur écouvillon avec du NeuMoDx Viral Lysis Buffer avant de le charger sur le NeuMoDx System pour son traitement subséquent. Pour les échantillons de salive, l'opérateur charge directement sur le NeuMoDx System le tube de stabilisation d'échantillon primaire contenant la salive stabilisée. Le NeuMoDx System démarre le traitement automatiquement en aspirant une aliquote de la matrice de l'échantillon sur écouvillon ou de salive stabilisée et en la mélangeant avec le NeuMoDx Lysis Buffer et les réactifs contenus dans la NeuMoDx Extraction Plate. Le NeuMoDx System assure l'automatisation et l'intégration de l'extraction et de la concentration de l'ARN, de la préparation des réactifs de PCR 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 à l'aide des réactifs NeuMoDx disponibles. Les acides nucléiques libérés sont capturés par des particules paramagnétiques. Ces particules, sur lesquelles sont fixés les acides nucléiques, 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 de NeuMoDx Release Reagent. Le NeuMoDx System utilise l'ARN élué pour réhydrater le mélange NeuDry™ exclusif d'amplification pour RT-PCR contenant tous les éléments nécessaires à l'amplification des cibles de SARS-CoV-2 et de SPC2. Cela permet l'amplification et la détection simultanées de la cible et du SPC2 dans une même réaction. 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 issu 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 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 quantitative est directement proportionnel au fluorophore libéré, et peut être corrélé avec la quantité de séquence cible présente. Une sonde TaqMan marquée avec un fluorophore FAM (470/510 nm) est utilisée pour détecter la région NSP2 du génome de SARS-CoV-2, tandis qu'une sonde TaqMan marquée avec un fluorophore HEX (530/555 nm) est utilisée pour détecter le gène N du génome de SARS-CoV-2. Pour la détection du SPC2, la sonde TaqMan est marquée avec un fluorophore dans le rouge lointain (680/715 nm). Le logiciel du NeuMoDx System contrôle le signal fluorescent émis par les sondes TaqMan à la fin de chaque cycle d'amplification. Une fois l'amplification terminée, le NeuMoDx System analyse les données et rapporte un résultat (POSITIVE [Positif]/NEGATIVE [Négatif]/INDETERMINATE [Indéterminé]/NO RESULTS [Aucun résultat]/UNRESOLVED [Non résolu]).

RÉACTIFS/CONSOMMABLES

Matériel fourni

RÉF	Contenu	Tests par unité	Tests par paquet
300800	NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip <i>Réactifs de RT-PCR déshydratés contenant des amorces et des sondes TaqMan spécifiques au SARS-CoV-2, ainsi que des amorces et une sonde TaqMan spécifiques au SPC2</i>	16	96

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

RÉF	Contenu
100100	NeuMoDx Cartridge
100200	NeuMoDx Extraction Plate
400100	NeuMoDx Wash Reagent
400200	NeuMoDx Release Reagent
400500 (Optionnel*)	NeuMoDx Lysis Buffer 2
400600**	NeuMoDx Lysis Buffer 3
401600 (Optionnel*)	NeuMoDx Viral Lysis Buffer
235903	Pointes Hamilton CO-RE / CO-RE II (300 µl) avec filtres
235905	Pointes Hamilton CO-RE / CO-RE II (1 000 µl) avec filtres

*Requis uniquement si une étape de prétraitement est jugée nécessaire pour réaliser une lyse des échantillons avant leur chargement. Voir la section « Mode d'emploi ».

**Requis uniquement pour le traitement direct des échantillons purs. Voir la section « Mode d'emploi » ci-dessous.

Écouvillon et milieu de transport (non fourni)

Type d'échantillon	Dispositifs de prélèvement	Dispositif de prélèvement recommandé	Écouvillon recommandé
Échantillon nasopharyngé sur écouvillon	Applicateur plastique avec écouvillons stériles en rayonne et polyester et écouvillons en nylon floqué pour prélèvement dans le milieu UTM® : Universal Transport Medium (Copan Diagnostic Inc, Californie) ou UVT BD Universal Viral Transport System (UVT) (BD, New Jersey)	3 ml/1 ml Universal Transport Medium (Copan UTM-RT) ou Universal Viral Transport System (BD UVT)	Flexible Minitip Size Nylon® Flocked Swab (Copan) ou Flexible minitip flocked swab (BD)
Écouvillon oropharyngé			
Écouvillon nasal			

Matériel de prélèvement salivaire (disponible séparément auprès de NeuMoDx)

RÉF	Contenu
100500	NeuMoDx Saliva Collection Kit Contient un (1) NeuMoDx Saliva Collection Vial, un (1) NeuMoDx Specimen Stabilization Tube avec 1 ml de NeuMoDx saliva stabilization buffer et une (1) pipette de transfert jetable (contenu suffisant pour la collecte d'un échantillon par kit ; se reporter au mode d'emploi pour plus de détails ; réf. 40600441)

Instruments requis

NeuMoDx 288 Molecular System [RÉF 500100] ou NeuMoDx 96 Molecular System [RÉF 500200 ou 500201]




AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay est réservé à une utilisation pour le diagnostic *in vitro* avec les NeuMoDx Systems.
- Sur ordonnance uniquement.
- Ne pas réutiliser.
- 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-A2².
- Les performances du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay sont garanties uniquement pour une utilisation par un personnel formé à l'utilisation du NeuMoDx System et à la manipulation des matières infectieuses.
- Pour tester des échantillons de salive, le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay doit être utilisé uniquement avec le NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- 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'ARNase et dotées de barrières anti-aérosols 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 les cas où des tests de PCR à tube ouvert sont également effectués par le laboratoire, prendre des précautions pour garantir que la NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip, les consommables et les réactifs supplémentaires nécessaires pour le 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 des précautions pour éviter de toucher la surface supérieure de la NeuMoDx Cartridge, la surface d'aluminium de la NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip et de la NeuMoDx Extraction Plate, ou la surface supérieure des récipients de NeuMoDx Lysis Buffer. Manipuler les consommables et les réactifs en touchant uniquement les surfaces latérales.
- Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles à l'adresse 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.
- Jeter les réactifs inutilisés et les déchets conformément aux réglementations en vigueur (nationales, fédérales, locales, de la province et de l'État).
- Les procédures suivies sur les instruments et pour le dosage réduisent le risque de contamination par le produit d'amplification. Néanmoins, l'absence de contamination par des acides nucléiques provenant des contrôles ou échantillons positifs doit être vérifiée conformément aux bonnes pratiques de laboratoire.
- 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.
- Pour travailler avec des produits chimiques, il convient de toujours porter une blouse adaptée, des gants jetables et des lunettes de protection. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Celles-ci sont disponibles en ligne au format PDF pratique et compact sur www.qiagen.com/safety, où vous pouvez trouver, consulter et imprimer la FDS de chaque kit NeuMoDx et de chaque composant du kit.

Précautions

NeuMoDx SARS-CoV-2-Assay	
<p>DANGER</p> 	<p>Contient : acide borique.</p> <p>Peut nuire à la fertilité ou au fœtus.</p> <p>Consulter les instructions spéciales avant utilisation. Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité. Porter des gants de protection / des vêtements de protection / un équipement de protection des yeux / du visage. En cas d'exposition avérée ou présumée : consulter un médecin. Stocker sous clé. Éliminer le contenu/récipient dans une installation de traitement des déchets agréée conformément aux réglementations en vigueur (internationales, nationales, régionales, locales).</p>

Informations en cas d'urgence

CHEMTREC

En dehors des États-Unis et du Canada, +1 703-527-3887

Élimination

Éliminer comme un déchet dangereux conformément aux réglementations locales et nationales. Cela vaut également pour les produits non utilisés.

Suivre les recommandations de la fiche de données de sécurité (FDS).



STOCKAGE, MANIPULATION ET STABILITÉ DU PRODUIT

- Les NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strips sont stables dans leur emballage primaire jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette lorsqu'elles sont conservées entre 4 et 28 °C.
- 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 NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip peut rester à bord du 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.

Échantillons nasaux et nasopharyngés

Les échantillons doivent être collectés à l'aide du Copan UTM-RT System ou du BD UVT System avec des écouvillons en nylon floqué (voir matériel non fourni). Les écouvillons floqués et les écouvillons en polyester ou en rayonne sont aussi compatibles. Respecter les instructions du fabricant pour le prélèvement, le transport et le stockage figurant dans le mode d'emploi de l'UTM-RT System ou du BD UVT System.

- Après le prélèvement, l'échantillon doit être stocké entre 2 et 25 °C puis traité dans un délai de 48 heures.
- Si la livraison et le traitement prennent plus de 48 heures, les échantillons doivent être transportés sur carboglace, puis congelés à une température de -70 °C ou inférieure une fois parvenus au laboratoire.

Échantillons de salive

Pour des instructions détaillées, se reporter au NeuMoDx Saliva Collection Kit ; réf. 40600441

Les échantillons doivent être collectés à l'aide du NeuMoDx Saliva Collection Kit. La salive collectée est transférée du NeuMoDx Saliva collection vial au NeuMoDx Specimen Stabilization Tube à l'aide de la pipette de transfert de façon à obtenir un rapport salive/SSB de 1:1,67 (v/v). La salive et le tampon de stabilisation doivent être mélangés soigneusement en retournant le flacon 5 à 8 fois. La salive stabilisée peut être testée directement sur le NeuMoDx System ou conservée pour une utilisation ultérieure.

- Les échantillons de salive peuvent être conservés pendant une durée maximale de 2 heures à température ambiante avant d'être mélangés avec le NeuMoDx Stabilization Buffer (Saliva Stabilization Buffer, SSB).
- Après avoir mélangé la salive avec le tampon de stabilisation, vérifier le volume dans le tube de stabilisation d'échantillon. Si le volume total est en dessous de la ligne de remplissage, ajouter de l'eau de qualité moléculaire pour compléter le volume jusqu'à la ligne de remplissage.
- La salive stabilisée peut être conservée pendant 24 heures à température ambiante et pendant 7 jours entre 2 et 8 °C. Laisser les échantillons réfrigérés s'équilibrer avec la température ambiante avant le test.
- La salive stabilisée peut être conservée pendant 12 heures à bord des NeuMoDx Molecular Systems.
- La salive stabilisée doit être transportée sur bloc réfrigérant et réfrigérée entre 2 et 8 °C si le délai entre la collecte et le traitement dépasse 48 heures.

MODE D'EMPLOI

Le NeuMoDx SARS-CoV-2 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 le milieu de transport et la salive dans le tampon de stabilisation sont chargés directement sur le NeuMoDx System dans des tubes de prélèvement d'échantillons primaires ou secondaires

– ou –

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

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

Remarque : amener tous les échantillons à température ambiante (15 à 30 °C) avant le traitement.

1. Appliquer une étiquette code-barres pour échantillon sur un tube à échantillon compatible avec le NeuMoDx System, comme décrit aux points 4 et 5 ci-dessous.
2. En cas de test de l'échantillon dans le tube de prélèvement d'échantillons primaire (échantillons sur écouvillons) ou dans le tube de stabilisation d'échantillon (échantillons de salive), placer le tube identifié par code-barres dans un porte-tubes à échantillon et veiller à ce que le bouchon et/ou l'écouvillon soient retirés avant le chargement sur le NeuMoDx System.

3. Une autre possibilité consiste à utiliser un tube secondaire identifié par code-barres, à y transférer une aliquote de milieu de transport ou de salive stabilisée puis à le placer dans un porte-tubes à échantillon de 32 tubes. En cas d'utilisation d'un tube secondaire, transférer une aliquote de milieu de transport ou de salive stabilisée dans un tube de prélèvement à 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 $\geq 1\ 000 \mu\text{l}$
 - Porte-tubes à échantillon faible volume (32 tubes) : tube de microcentrifugation de 1,5 ml à fond conique ; volume de remplissage minimal $\geq 500 \mu\text{l}$
5. *Pour les échantillons de salive stabilisée :*
 - Porte-tubes à échantillon (32 tubes) : 11 à 14 mm de diamètre et 60 à 120 mm de hauteur ; volume de remplissage minimal $\geq 800 \mu\text{l}$
 - Porte-tubes à échantillon faible volume (32 tubes) : tube de microcentrifugation de 1,5 ml à fond conique ; volume de remplissage minimal $\geq 700 \mu\text{l}$

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

Remarque : amener tous les échantillons à température ambiante (15 à 30 °C) avant le traitement.

AVERTISSEMENT : *Le prétraitement des échantillons sur écouvillons avec le NeuMoDx 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 Viral Lysis Buffer en proportion 1:1. Cela peut s'effectuer dans le tube de prélèvement d'échantillons 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 Viral Lysis Buffer. Le mélange obtenu doit satisfaire aux exigences de volume minimal spécifié ci-dessous.
2. Homogénéiser délicatement avec la pipette pour assurer l'uniformité de la distribution du NeuMoDx Viral Lysis Buffer.
3. En cas de test de l'échantillon dans le tube de prélèvement primaire, placer le tube identifié par application d'un code-barres dans un porte-tubes à échantillon 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 du lysat du milieu de transport dans un tube de prélèvement à code-barres identifié par application d'un code-barres compatible avec le NeuMoDx System conformément aux volumes indiqués 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 $\geq 550 \mu\text{l}$
 - Porte-tubes à échantillon (24 tubes) : 14,5 à 18 mm de diamètre et 60 à 120 mm de hauteur ; volume de remplissage minimal $\geq 1\ 000 \mu\text{l}$
 - Porte-tubes à échantillon faible volume (32 tubes) : tube de microcentrifugation de 1,5 ml à fond conique ; volume de remplissage minimal $\geq 500 \mu\text{l}$

Fonctionnement du NeuMoDx Systems

Pour des instructions détaillées, se reporter aux manuels d'utilisation des NeuMoDx 288 et 96 Molecular Systems (réf. 40600108 et 40600317/40600655)

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 en suivant la méthode AVEC PRÉTRAITEMENT sont testés en définissant chaque échantillon comme « **UserSpecified1** » (Spécifié par l'utilisateur 1)
 - Les échantillons de salive stabilisée traités en suivant la méthode DIRECTE sont testés en définissant chaque échantillon comme « **UserSpecified2** » (Spécifié par l'utilisateur 2)
2. Remplir un ou plusieurs Test Strip Carriers avec une ou plusieurs NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strips et utiliser l'écran tactile pour charger le ou les Test Strip Carriers dans le NeuMoDx System.
3. À l'invite du logiciel du NeuMoDx System, ajouter les consommables nécessaires (NeuMoDx Cartridges, NeuMoDx Extraction Plates, NeuMoDx Lysis Buffer 2, NeuMoDx Lysis Buffer 3, pointes CO-RE) sur les supports de consommables du NeuMoDx System et utiliser l'écran tactile pour charger ces supports dans le NeuMoDx System en fonction des besoins.
4. À l'invite du logiciel du NeuMoDx System, remplacer le NeuMoDx Wash Reagent et/ou le NeuMoDx Release Reagent en fonction des besoins.
5. À l'invite du logiciel du NeuMoDx System, vider les déchets d'amorçage, le récipient pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 288 Molecular System uniquement), le bac à pointes usagées (NeuMoDx 96 Molecular System uniquement) ou la poubelle pour déchets à risque biologique (NeuMoDx 96 Molecular System uniquement) en fonction des besoins.

- Charger le ou les échantillons sur un porte-tubes à échantillon et veiller à ce que les bouchons aient été retirés de tous les tubes.
- 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

- Le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a été évalué uniquement pour une utilisation sur les NeuMoDx Molecular Systems.
- Le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a été conçu pour la détection de l'ARN de SARS-CoV-2 dans les échantillons prélevés par écouvillonnage nasal, nasopharyngé et oropharyngé avec le Copan UTM-RT System (UTM-RT) ou le BD Universal Viral Transport System (UVT), ainsi que dans les échantillons de salive collectés à l'aide du NeuMoDx Saliva Collection Kit. L'utilisation du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay avec d'autres types d'échantillons n'a pas été évaluée et les caractéristiques de performances sont inconnues.
- La fiabilité des résultats dépend de la qualité de la collecte, manipulation et conservation des échantillons.
- Les échantillons prélevés par écouvillonnage nasal, écouvillonnage du cornet nasal moyen et lavage bronchoalvéolaire sont considérés comme compatibles avec l'utilisation du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, mais les performances n'ont pas été établies pour ces types d'échantillons. Le test des écouvillons nasaux et du cornet nasal moyen (prélevés par le patient lui-même sous la supervision d'un professionnel de santé ou directement par un professionnel de santé) est limité aux patients présentant des symptômes du COVID-19.
- Pour tester des échantillons de salive, le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay doit être utilisé uniquement avec le NeuMoDx Saliva Collection Kit.
- La collecte, manipulation ou conservation inappropriée des échantillons, ainsi que les erreurs techniques ou les erreurs d'identification des tubes de prélèvement d'échantillons, peut entraîner des résultats erronés. Un volume de salive incorrect dans le tube de stabilisation d'échantillon peut diminuer la sensibilité du test. 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 SARS-CoV-2 Assay.
- Si les cibles de SARS-CoV-2 et de SPC2 ne sont pas amplifiées, un résultat non valide (Indeterminate [Indéterminé], No Results [Aucun résultat] ou Unresolved [Non résolu]) sera rapporté et le test doit être répété.
- Les délétions ou les mutations dans les régions ciblées par le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay peuvent affecter la détection et entraîner des résultats erronés.
- La présence de Crest® Pro-Health Advanced Gum Protection Toothpaste dans les échantillons de salive peut interférer avec la détection de l'ARN de SARS-CoV-2 et entraîner un résultat erroné.
- Un résultat positif indique la présence d'ARN de SARS-CoV-2, mais pas nécessairement la présence de SARS-CoV-2 infectieux.
- Les résultats négatifs n'excluent pas la possibilité d'une infection par le virus SARS-CoV-2 et ne doivent pas constituer le seul critère de décision pour la prise en charge ou le traitement des patients.
- Les résultats du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay doivent être utilisés en complément des observations cliniques et des autres informations dont dispose le médecin.
- 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 de test 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. Un résultat de test est indiqué comme Positive (POS) (Positif), Negative (NEG) (Négatif), Indeterminate (IND) (Indéterminé), No Results (NR) (Aucun résultat) ou Unresolved (UNR) (Non résolu) en fonction du statut d'amplification de la cible et du contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2).

Les critères pour un résultat positif ou négatif sont spécifiés dans le fichier de définition (Assay Definition File, ADF) du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay installé sur le NeuMoDx System. Les résultats pour les échantillons sur écouvillons et les échantillons de salive sont rapportés en fonction de l'algorithme de décision de l'ADF, qui est résumé dans les *tableaux 1* et *2*, respectivement, ci-dessous.

Tous les contrôles du test doivent être examinés avant l'interprétation des résultats patient. Si les contrôles ne sont pas valides, les résultats des patients ne peuvent pas être interprétés.

Tableau 1. Interprétation des résultats du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

RÉSULTAT GLOBAL	CIBLE 1 (gène NSP2), FAM	CIBLE 2 (gène N), HEX	CONTRÔLE DES PROCESSUS (SPC2), rouge lointain	Interprétation
POSITIVE (POSITIF)	AMPLIFIED (AMPLIFIÉ) [5 ≤ Ct < 20 AND (ET) EPR ≥ 1,2 AND (ET) EP ≥ 700] OR (OU) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (ET) EP ≥ 700)	N/A (S.O.)	N/A (S.O.)	ARN de SARS-CoV-2 détecté**
	N/A (S.O.)	AMPLIFIED (AMPLIFIÉ) (5 ≤ Ct < 20 AND (ET) EPR ≥ 1,5 AND (ET) EP ≥ 1 000] OR (OU) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (ET) EP > 1 000)		
NEGATIVE (NÉGATIF)	NOT AMPLIFIED (NON AMPLIFIÉ) N/A (S.O.) OR (OU) (5 ≤ Ct < 20 AND (ET) EPR < 1,2) OR (OU) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (ET) EP < 700) OR (OU) (Ct > 40)	NOT AMPLIFIED (NON AMPLIFIÉ) N/A (S.O.) OR (OU) (5 ≤ Ct < 20 AND (ET) EPR < 1,5) OR (OU) (20 ≤ Ct ≤ 40 AND (ET) EP < 1 000) OR (OU) (Ct > 40)	AMPLIFIED (AMPLIFIÉ) (24 ≤ Ct ≤ 33 AND (ET) EP ≥ 1 000)	ARN de SARS-CoV-2 non détecté
IND*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (NON AMPLIFIÉ/erreurs système remarquées, traitement des échantillons terminé)			Tous les résultats des cibles étaient non valides ; retester l'échantillon
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Aborted (NON AMPLIFIÉ/erreurs système remarquées, traitement des échantillons abandonné)			Traitement des échantillons abandonné ; retester l'échantillon
UNR*	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NON AMPLIFIÉ/pas d'erreurs système remarquées)			Tous les résultats des cibles étaient non valides ; retester l'échantillon

*Le System est pourvu d'une capacité automatique de réexécution/répétition que l'utilisateur peut choisir de sélectionner pour s'assurer qu'un résultat IND (Indéterminé), NR (Aucun résultat) ou UNR (Non résolu) est retraité automatiquement afin de réduire les délais de transmission des résultats.

**Le test peut être répété dans le cas où seule l'une des deux cibles de SARS-CoV-2 a été amplifiée.

Tableau 2. Interprétation des résultats du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay – échantillons de salive

RÉSULTAT GLOBAL	CIBLE 1 (gène NSP2), FAM	CIBLE 2 (gène N), HEX	CONTRÔLE DES PROCESSUS (SPC2), rouge lointain	Interprétation
POSITIVE (POSITIF)	AMPLIFIED (AMPLIFIÉ) [5 ≤ Ct < 28 AND (ET) EP ≥ 600 AND (ET) EPR > 1,2] OR (OU) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (ET) EP ≥ 600]	N/A (S.O.)	N/A (S.O.)	ARN de SARS-CoV-2 détecté**
	N/A (S.O.)	AMPLIFIED (AMPLIFIÉ) [5 ≤ Ct < 28 AND (ET) EP ≥ 675 AND (ET) EPR > 1,2] OR (OU) [28 ≤ Ct ≤ 40 AND (ET) EP ≥ 675]		
NEGATIVE (NÉGATIF)	NOT AMPLIFIED (NON AMPLIFIÉ) N/A (S.O.) OR (OU) [5 ≤ Ct < 28 AND (ET) EPR ≤ 1,2] OR (OU) [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (ET) EP < 600] OR (OU) [Ct > 40]	NOT AMPLIFIED (NON AMPLIFIÉ) N/A (S.O.) OR (OU) [5 ≤ Ct < 28 AND (ET) EPR ≤ 1,2] OR (OU) [28 ≤ Ct ≤ 42 AND (ET) EP < 675] OR (OU) [Ct > 40]	AMPLIFIED (AMPLIFIÉ) (24 ≤ Ct ≤ 33 AND (ET) EP ≥ 1 000)	ARN de SARS-CoV-2 non détecté
IND*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Completed (NON AMPLIFIÉ/erreurs système remarquées, traitement des échantillons terminé)			Tous les résultats des cibles étaient non valides ; retester l'échantillon
NR*	NOT AMPLIFIED/System Errors Noted, Sample Processing Aborted (NON AMPLIFIÉ/erreurs système remarquées, traitement des échantillons abandonné)			Traitement des échantillons abandonné ; retester l'échantillon
UNR*	NOT AMPLIFIED/No System Errors Noted (NON AMPLIFIÉ/pas d'erreurs système remarquées)			Tous les résultats des cibles étaient non valides ; retester l'échantillon

*Le System est pourvu d'une capacité automatique de réexécution/répétition que l'utilisateur peut choisir de sélectionner pour s'assurer qu'un résultat IND (Indéterminé), NR (Aucun résultat) ou UNR (Non résolu) est retraité automatiquement afin de réduire les délais de transmission des résultats.

**Le test peut être répété dans le cas où seule l'une des deux cibles de SARS-CoV-2 a été amplifiée.

Un résultat positif peut être rapporté pour les échantillons présentant un statut d'amplification différentielle, dans lequel une seule des cibles – la cible 1 (le gène NSP2) ou la cible 2 (le gène N) – est amplifiée. Cela peut se produire à cause 1) d'une concentration d'échantillon proche ou en dessous de la limite de détection du test, 2) d'une mutation dans l'une des régions cibles ou 3) d'autres facteurs. En cas de test positif dans lequel une seule des cibles est amplifiée, il peut être envisagé de répéter le test si le contrôle SPC2 est négatif. Si le résultat du test répété reste le même, des tests de confirmation supplémentaires doivent être réalisés s'ils sont cliniquement indiqués.

Résultats non valides

Si un NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay effectué sur le NeuMoDx System échoue à produire un résultat valide, ce résultat sera rapporté comme Indeterminate (Indéterminé), No Results (Aucun résultat) ou Unresolved (Non résolu) en fonction du type d'erreur survenue et le test doit 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) sera 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) sera rapporté si aucune cible n'est détectée et qu'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.

Contrôle de la qualité

Il incombe aux laboratoires de mettre en œuvre des procédures de contrôle pour vérifier l'exactitude et la précision de l'ensemble du processus d'analyse, ainsi que d'établir le nombre, le type et la fréquence des tests des produits de contrôle.

1. Aucun produit de contrôle n'est fourni avec le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Toutefois, les produits de contrôle suivants, qui ont été validés par NeuMoDx, sont recommandés. Les contrôles doivent respecter les mêmes spécifications de volume minimal que les échantillons cliniques indiquées précédemment en fonction de la taille du porte-tubes à échantillon.

Pour les échantillons sur écouvillons, les contrôles suivants sont recommandés

- Contrôle positif :
 - ARN génomique de SARS-CoV-2 purifié (réf. catalogue VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, États-Unis) à une concentration finale de 5E3 cp/ml
 - SARS-CoV-2 thermo-inactivé (réf. catalogue VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, États-Unis) à une concentration finale de 5E3 cp/ml
 - 5 ml de NATtrol™ SARS-CoV-2 (recombinant) Stock (contient seulement le gène N ; réf. catalogue 0831042, ZeptoMetrix Buffalo, NY, États-Unis) dans 1 ml de milieu BD UVT.
- Contrôle négatif : milieux Copan/BD UVT ou l'équivalent.

Pour les échantillons de salive, les contrôles suivants sont recommandés

Contrôle positif : diluer l'un des produits suivants dans un mélange d'eau de qualité moléculaire et de SSB dans un rapport eau/SSB de 1:1,67 (v/v).

- ARN génomique de SARS-CoV-2 purifié (réf. catalogue VR-1986D, ATCC, Manassas, VA, États-Unis) à une concentration finale de 5E3 cp/ml
- SARS-CoV-2 thermo-inactivé (réf. catalogue VR-1986HK, ATCC, Manassas, VA, États-Unis) à une concentration finale de 5E3 cp/ml
- NATtrol™ SARS-CoV-2 (recombinant) Stock (contient seulement le gène N ; réf. catalogue 0831042, ZeptoMetrix Buffalo, NY, États-Unis) avec une dilution 1:20.

Contrôle négatif : 0,6 ml d'eau de qualité moléculaire ajouté à 1 ml de tampon de stabilisation de la salive (Saliva Stabilization Buffer, SSB) ou dans un rapport eau/SSB de 1:1,67 (v/v).

2. Il est recommandé que les utilisateurs procèdent au traitement d'un jeu de contrôles positifs et négatifs toutes les 24 heures et avant de traiter les échantillons patient.
3. Lors du traitement des contrôles, 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, le NeuMoDx System reconnaît leur code-barres et déclenche leur traitement.
4. Les amorces et la sonde spécifiques au contrôle des processus de traitement d'échantillons (Sample Process Control, SPC2) sont incluses dans chaque NeuMoDx SARS-CoV-2 Test Strip. Ce contrôle des processus d'échantillon permet au NeuMoDx System de contrôler l'efficacité de l'extraction de l'ARN et de l'amplification par RT-PCR.
5. 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.
6. Le logiciel du NeuMoDx System surveille en permanence les capteurs et actionneurs intégrés pour garantir un fonctionnement sûr et efficace du System.
7. Plusieurs modes de récupération des erreurs de liquides sont implémentés par une surveillance active des opérations d'aspiration et de distribution pour assurer que le System peut soit terminer le traitement de tous les échantillons de façon sûre et efficace, soit fournir un code d'erreur approprié.
8. Le NeuMoDx System est pourvu d'une capacité automatique Rerun/Repeat (Réexécuter/répéter) que l'utilisateur peut choisir de sélectionner pour s'assurer qu'un résultat INVALID (Non valide) est retraité automatiquement afin de réduire les délais de transmission des résultats.
9. Un résultat de test positif rapporté pour un échantillon de contrôle négatif peut indiquer un problème de contamination de l'échantillon. Se reporter au *Manuel d'utilisation du NeuMoDx 288 ou 96 Molecular System* pour des conseils de résolution des problèmes.
10. Un résultat négatif rapporté pour un échantillon de contrôle positif peut indiquer qu'il y a un problème avec un réactif ou avec le NeuMoDx System. Se reporter au *Manuel d'utilisation du NeuMoDx 288 ou 96 Molecular System* pour des conseils de résolution des problèmes.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCES

Sensibilité analytique : échantillons nasopharyngés sur écouvillons

La limite de détection (Limit of Detection, LoD) du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a été déterminée en testant une série de dilutions d'un pool d'échantillons cliniques sur écouvillons nasopharyngés négatifs (écouvillons en nylon floqué collectés à l'aide d'UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] ou d'UVT [BD, NJ]) enrichis avec l'ARN génomique de SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) et traités avec les méthodes DIRECTE et AVEC PRÉTRAITEMENT. Au moins 20 répliquats de chaque dilution ont été évalués sur les deux NeuMoDx Systems pour chaque méthode. Une LoD de **150 copies/ml** a été déterminée.

Tableau 3. Taux de détection et limite de détection de SARS-CoV-2 sur le NeuMoDx 96 Molecular System : Méthode avec prétraitement

LoD SARS-CoV-2 : N96, méthode avec prétraitement								
Niveau cible	Résultats valides	Positif au gène NSP2		Taux de détection du gène NSP2	Positif au gène N		Taux de détection du gène N	Taux d'amplification des deux cibles
		n	Ct moyen		n	Ct moyen		
250 cp/ml	22	22	31,7	100 %	22	30,9	100 %	100 %
150 cp/ml	20	20	31,5	100 %	20	31,0	100 %	100 %
50 cp/ml	24	0	S.O.	0 %	22	31,8	91,7 %	0 %
Negative (Négatif)	30	S.O.		0 %	0	S.O.	0 %	0 %
LoD N96 : 150 cp/ml [plus bas niveau cible affichant un taux de détection > 95 % pour les deux cibles]								

Tableau 4. Taux de détection et limite de détection de SARS-CoV-2 sur le NeuMoDx 288 Molecular System : Méthode avec prétraitement

LoD SARS-CoV-2 : N288, méthode avec prétraitement								
Niveau cible	Résultats valides	Positif au gène NSP2		Taux de détection du gène NSP2	Positif au gène N		Taux de détection du gène N	Taux d'amplification des deux cibles
		n	Ct moyen		n	Ct moyen		
250 cp/ml	21	21	32,1	100 %	21	31,4	100 %	100 %
150 cp/ml	26	26	31,7	100 %	26	31,2	100 %	100 %
50 cp/ml	21	11	32,2	52,4 %	20	32,2	95,2 %	52,4 %
Negative (Négatif)	20	0	S.O.	0 %	0	S.O.	0 %	0 %
LoD N288 : 150 cp/ml [plus bas niveau cible affichant un taux de détection > 95 % pour les deux cibles]								

Tableau 5. Taux de détection et limite de détection de SARS-CoV-2 sur le NeuMoDx 96 Molecular System : Méthode directe

LoD SARS-CoV-2 : N96, Méthode directe								
Niveau cible	Résultats valides	Positif au gène NSP2		Taux de détection du gène NSP2	Positif au gène N		Taux de détection du gène N	Taux d'amplification des deux cibles
		n	Ct moyen		n	Ct moyen		
400 cp/ml	24	23*	32,4	95,8 %	24	31,1	100,0 %	95,8 %
250 cp/ml	24	24	33,0	100,0 %	24	31,7	100,0 %	100,0 %
150 cp/ml	24	24	33,4	100,0 %	24	32,4	100,0 %	100,0 %
50 cp/ml	24	12	32,6	50,0 %	18	32,8	75,0 %	41,7%**
Negative (Négatif)	22	0		0 %	0		0 %	0 %
LoD N96 : 150 cp/ml [plus bas niveau cible affichant un taux de détection > 95 % pour les deux cibles]								

*Cet échantillon a affiché également une faible amplification SPC2. On pense que l'absence d'amplification est un artefact du traitement par le système. Cela est en accord avec un taux de détection de 100 % à la même concentration cible dans RPT-8505B (Évaluation clinique). De plus, dans cette étude, un taux de détection de 100 % a été obtenu à des concentrations plus faibles de 250 et 150 cp/ml.

**Dans 10 échantillons sur 24, les deux cibles ont été détectées à 50 cp/ml, pour un taux global de positivité de 41,7 %.

Tableau 6. Taux de détection et limite de détection de SARS-CoV-2 sur le NeuMoDx 288 Molecular System : Méthode directe

LoD SARS-CoV-2 : N288, méthode directe								
Niveau cible	Résultats valides	Positif au gène NSP2		Taux de détection du gène NSP2	Positif au gène N		Taux de détection du gène N	Taux d'amplification des deux cibles
		n	Ct moyen		n	Ct moyen		
400 cp/ml	24	24	32,8	100,0 %	24	31,7	100,0 %	100,0 %
250 cp/ml	24	24	33,0	100,0 %	24	32,0	100,0 %	100,0 %
150 cp/ml	22	21	33,5	95,5 %	22	32,4	100,0 %	95,5 %
50 cp/ml	24	20	34,3	83,3 %	24	33,4	100,0 %	83,3 %
Negative (Négatif)	24	0		0,0 %	0		0,0 %	0,0 %
LoD N288 : 150 cp/ml [plus bas niveau cible affichant un taux de détection > 95 % pour les deux cibles]								

Sensibilité analytique : échantillons de salive

La limite de détection (Limit of Detection, LoD) du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay pour les échantillons de salive a été évaluée en testant une série de dilutions d'un pool d'échantillons de salive négatifs (mêlés avec le NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer avec un rapport salive/tampon de 1:1,67), enrichis en virus SARS-CoV-2 traité par irradiation γ (BEI Ressources NR-52287) ou en ARN génomique de SARS-CoV-2 (BEI Ressources NR-52285), puis analysés en suivant la méthode directe. Au moins cinq réplicats à chaque dilution ont été évalués à une concentration proche de la LoD attendue, puis une procédure de confirmation a été suivie avec au moins 20 réplicats aux plus bas niveaux de concentration donnant des résultats positifs. La LoD déterminée pour l'ARN génomique et le virus traité par irradiation γ étaient de respectivement **50 copies/ml** et **0,0075 DICT50/ml**.

Tableau 7. Taux de détection et limite préliminaire de détection avec SARS-CoV-2 traité par irradiation γ

LoD pour SARS-CoV-2 ; virus SARS-CoV-2 traité par irradiation γ								
Niveau cible	Résultats valides	Positif au gène NSP2		Taux de détection du gène NSP2	Positif au gène N		Taux de détection du gène N	Taux d'amplification des deux cibles
		N	Ct moyen		n	Ct moyen		
0,01 DICT50/ml	5	5	32,8	100 %	5	32,6	100 %	100 %
0,005 DICT50/ml	5	5	34,0	100 %	5	33,1	100 %	100 %
0,0025 DICT50/ml	10	4	33,5	40 %	5	32,7	50 %	30 %*
LoD préliminaire – virus traité par irradiation γ : 0,0025 DICT50/ml [plus bas niveau cible affichant un taux de détection > 95 % pour les deux cibles]								
*Dans trois échantillons sur dix (3/10), les deux cibles ont été détectées à 0,0025 DICT50/ml, pour un taux global de positivité de 30 %.								

Tableau 8. Taux de détection et limite préliminaire de détection avec l'ARNg de SARS-CoV-2

LoD pour SARS-CoV-2 ; ARN génomique de SARS-CoV-2								
Niveau cible	Résultats valides	Positif au gène NSP2		Taux de détection du gène NSP2	Positif au gène N		Taux de détection du gène N	Taux d'amplification des deux cibles
		N	Ct moyen		n	Ct moyen		
100 cp/ml	5	5	32,7	100 %	5	31,8	100 %	100 %
50 cp/ml	5	5	33,3	100 %	5	32,5	100 %	100 %
40 cp/ml	10	6	34,4	60 %	9	33,1	90 %	60 %*
25 cp/ml	10	4	34,1	40 %	9	33,0	90 %	40 %**
LoD préliminaire – ARNg : 50 cp/ml [plus bas niveau cible affichant un taux de détection > 95 % pour les deux cibles]								
*Dans six échantillons sur dix (6/10), les deux cibles ont été détectées à 40 cp/ml, pour un taux global de positivité de 60 %.								
**Dans quatre échantillons sur dix (4/10), les deux cibles ont été détectées à 25 cp/ml, pour un taux global de positivité de 40 %.								

Tableau 9. Taux de détection et confirmation de la limite de détection avec SARS-CoV-2 traité par irradiation γ

LoD pour SARS-CoV-2 ; virus SARS-CoV-2 traité par irradiation γ									
Système	Niveau cible	Résultats valides	Positif au gène NSP2		Taux de détection du gène NSP2	Positif au gène N		Taux de détection du gène N	Taux d'amplification des deux cibles
			N	Ct moyen		n	Ct moyen		
N288	0,0075 DICT50/ml	20	20	33,7	100 %	20	33,0	100 %	100 %
N96	0,0075 DICT50/ml	20	20	34,2	100 %	20	33,8	100 %	100 %
N288	0,005 DICT50/ml	20	18	33,4	90 %	18	33,3	90 %	85 %*
N96	0,005 DICT50/ml	20	15	33,4	80 %	16	33,3	80 %	65 %**
LoD N288 : 0,0075 DICT50/ml [plus bas niveau cible affichant un taux de détection > 95 % pour les deux cibles]									
LoD N96 : 0,0075 DICT50/ml [plus bas niveau cible affichant un taux de détection > 95 % pour les deux cibles]									
*Dans dix-sept échantillons sur vingt (17/20), les deux cibles ont été détectées sur le N288, pour un taux global de positivité de 85 %.									
**Dans treize échantillons sur vingt (13/20), les deux cibles ont été détectées sur le N96, pour un taux global de positivité de 65 %.									

Tableau 10. Taux de détection et confirmation de la limite de détection avec l'ARNg de SARS-CoV-2

LoD pour SARS-CoV-2 ; ARN génomique de SARS-CoV-2									
Système	Niveau cible	Résultats valides	Positif au gène NSP2		Taux de détection du gène NSP2	Positif au gène N		Taux de détection du gène N	Taux d'amplification des deux cibles
			N	Ct moyen		n	Ct moyen		
N288	50 cp/ml	20	20	34,4	100 %	20	33,9	100 %	100 %
N96	50 cp/ml	20	19	33,9	95 %	19	33,8	95 %	95 %*
LoD N288 : 50 cp/ml [plus bas niveau cible affichant un taux de détection > 95 % pour les deux cibles]									
LoD N96 : 50 cp/ml [plus bas niveau cible affichant un taux de détection > 95 % pour les deux cibles]									
*Dans dix-neuf échantillons (19) sur vingt (20), les deux cibles ont été détectées sur le N96, pour un taux global de positivité de 95 %.									

Inclusivité

L'inclusivité du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a été évaluée dans une analyse *in silico* par cartographie des amorces et sondes du dosage sur toutes les séquences de SARS-CoV-2 disponibles (n = 96) dans la base de données du NCBI à la date du 14 mars 2020. Les régions des sondes et amorces du test ont été comparées par analyse *in silico* pour vérifier l'homologie de la séquence avec les souches circulantes de SARS-CoV-2. Le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay présentait une homologie de 100 % avec toutes les séquences, sauf une, pour le gène NSP2 (cible 1). La séquence qui faisait exception différait par un seul nucléotide dans l'amorce sens, sans que cela ait d'incidence prévisible sur les performances du dosage. L'homologie entre les amorces et la sonde du gène N (cible 2) était de 100 % pour toutes les séquences disponibles.

Réactivité croisée et interférences microbiennes

Le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a été évalué *in silico* en termes de réactivité croisée avec les microorganismes indiqués dans le *tableau 11* en cartographiant individuellement les amorces et les sondes du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay sur les séquences dans la base de données du NCBI. Aucune des séquences analysées ne présentait d'homologie avec les amorces ou la sonde du gène NSP2 (cible 1). *Haemophilus influenzae* (CP000672.1) présentait une homologie avec l'amorce sens du gène N (cible 2), mais ne présentait pas d'homologie notable avec l'amorce antisens et la sonde. De même, le coronavirus SRAS (AY345986.1) présentait une homologie avec l'amorce sens et la sonde du gène N, mais ne présentait pas d'homologie avec l'amorce antisens. *Pseudomonas aeruginosa* (CP000438.1) a présenté une homologie avec l'amorce sens SPC2, mais aucune avec l'une ou l'autre des cibles de SARS-CoV-2. L'analyse *in silico* n'a donc montré aucune réactivité croisée probable avec aucune des séquences évaluées. D'autres tests « humides » ont confirmé que *H. influenzae* et *P. aeruginosa* ne posaient aucun risque de réactivité croisée ou d'interférence microbienne. Les résultats sont présentés dans les *tableaux 12* et *13*.

Tableau 11. Analyse *in silico* pour les organismes susceptibles de réactivité croisée

Organisme	Numéro d'enregistrement GenBank du NCBI	Organisme	Numéro d'enregistrement GenBank du NCBI
Coronavirus humain 229E	KF514433.1	Grippe B	MK969560.1
	KF514432.1	Entérovirus	JF896312.1
Coronavirus humain OC43	KX344031.1	Virus respiratoire syncytial	JN032120.1
	KF530099.1	Rhinovirus	NC_001490.1
Coronavirus humain HKU1	KF430201.1	<i>Chlamydia pneumoniae</i>	NZ_LN847241.1
	MH940245.1	<i>Haemophilus influenzae</i>	CP000672.1
Coronavirus humain NL63	KF530114.1	<i>Legionella pneumophila</i>	CP015928.1
	KF530113.1	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	AP018036.1
Coronavirus SRAS	AY686863.1	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	CP027540.1
		<i>Streptococcus pyogenes</i>	AE009949.1
Coronavirus MERS	MH013216.1	<i>Bordetella pertussis</i>	CP011448.1
Adénovirus	AC_000017.1	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	CP039772.1
Métapneumovirus humain (hMPV)	KJ627437.1	<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	MH010446.1
Virus parainfluenza 1	KX639498.1	<i>Candida albicans</i>	NC_018046.1
Virus parainfluenza 2	KM190939.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CP000438.1
Virus parainfluenza 3	KF530243.1	<i>Staphylococcus epidermis</i>	KY750253.1
Virus parainfluenza 4	KF483663.1	<i>Streptococcus salivarius</i>	CP020451.2
Grippe A	MH798556.1		

Tableau 12. Étude de la réactivité croisée et des interférences de *H. Influenzae*

ÉCHANTILLON		Résultats valides	Nbre de positifs au gène N	% de positifs au gène N (jaune)	Ct moy. gène N	Nbre de positifs au gène NSP2	% de positifs au gène NSP2 (vert)	Ct moy. gène NSP2	Ct moy. SPC2
Réactivité croisée	UVT pur (Contrôle négatif)	3	0	0 %	N/A (S.O.)	0	0 %	N/A (S.O.)	27,7
	UVT + <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 UFC/ml)	3	0	0 %	N/A (S.O.)	0	0 %	N/A (S.O.)	28,3
Interférence	UVT pur + ARN de SARS-CoV-2 (750 copies/ml) (Contrôle positif)	3	3	100 %	32,03	3	100 %	34,05	27,8
	UVT + <i>H. Influenzae</i> (7,2E6 UFC/ml) + ARN de SARS-CoV-2 (750 copies/ml)	3	3	100 %	32,45	3	100 %	33,98	27,7

Tableau 13. Étude de la réactivité croisée et des interférences de *P. aeruginosa*

ÉCHANTILLON		Résultats valides	Gène N (HEX)			Gène NSP2 (FAM)			SPC2 (rouge lointain)
			Pos	% Pos	Ct moy.	Pos	% Pos	Ct moy.	Ct moy.
Réactivité croisée	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ^E 6 UFC/ml)	3	0	0 %	N/A (S.O.)	0	0 %	N/A (S.O.)	27,5
Interférence	Contrôle d'UVT pur	3	3	100 %	30,3	3	100 %	32,0	26,9
	Positive (Positif)								
	UVT + <i>P. aeruginosa</i> (1 ^E 6 UFC/ml) + ARN de SARS-CoV-2 (450 copies/ml)	3	3	100 %	30,4	3	100 %	32,0	27,0

Substances interférentes : échantillons sur écouvillons nasopharyngés

Le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a été évalué en termes de susceptibilité aux interférences causées par des substances potentiellement associées avec la collecte d'échantillons par écouvillonnage nasopharyngé. Des échantillons sur écouvillons cliniques négatifs résiduels ont été enrichis avec l'ARN génomique de SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285) à une concentration de 5 × LoD puis traités en présence et en absence des agents indiqués dans le *tableau 14* ci-dessous. Aucune des substances incluses dans les tests n'a eu d'effet négatif sur les performances du dosage.

Tableau 14. Substances testées pour évaluer les interférences

	Substance	Concentration*
Endogènes	Mucine	0,5 % (p/v)
	Sang	2 % (v/v)
Exogènes	Afrin® Original (oxymétazoline)	15 % (v/v)
	Zicam® Cold Remedy Nasal Spray	5 % (v/v)
	Flonase® Allergy Relief (fluticasone)	5 % (v/v)
	Béclométasone	10 mg/ml
	Mupirocine	11,4 mg/ml
	Relenza® (zanamivir)	5,25 mg/ml
	Tamiflu® (oseltamivir)	7,5 mg/ml
	Tobramycine	1,8 mg/ml

*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.

Substances interférentes : échantillons de salive

Le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a été évalué en termes de susceptibilité aux interférences causées par des substances potentiellement associées avec la collecte d'échantillons de salive. Un pool d'échantillons négatifs a été enrichi avec du virus SARS-CoV-2 traité par irradiation γ (BEI Resources NR-52287) à $10 \times \text{LoD}$, préparé avec le NeuMoDx Saliva Collection Kit et analysé en présence et en absence des produits figurant dans le *tableau 15* ci-dessous. Aucune des substances incluses dans les tests n'a eu d'effet négatif sur les performances du dosage aux concentrations indiquées.

Tableau 15. Substances testées pour évaluer les interférences : échantillons de salive

	Substance	Concentration
Endogènes	Sang total	1 % v/v
Exogènes	Altoids™ (Menthe verte)	2 % (p/v)
	Aspirin™	1 % (p/v)
	Bain de bouche antiseptique LISTERINE® Ultra-Clean	1 % v/v
	Pastilles contre la toux Halls™ (menthol-eucalyptus)	1 % (p/v)
	Crest Pro-Health Advanced Gum Protection	0,001 % (p/v)*
	Sirop contre la toux Wal-Tussin® DM Max	1 % v/v

*La concentration de cette substance est rapportée suite au résultat d'une étude dose-réponse à partir de 0,1 %, qui a démontré qu'elle était inhibitrice.

Reproductibilité

La reproductibilité intralaboratoire du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay a été vérifiée par une analyse rétrospective des performances à l'aide d'échantillons cliniques nasopharyngés sur écouvillons négatifs et positifs artificiels. Les données résumées dans les *tableaux 16a-c* ont été obtenues lors de tests effectués par plusieurs opérateurs sur deux instruments pendant trois jours. Les résultats des échantillons préparés avec les méthodes DIRECTE et AVEC PRÉTRAITEMENT sont présentés.

Tableau 16a. Reproductibilité et précision globales du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Concentration en SARS-CoV-2 (cp/ml)	N	Cible N			Cible NSP2			SPC2		
		% positifs	Ct moy.	%CV de Ct	% positifs	Ct moy.	%CV de Ct	% positifs	Ct moy.	%CV de Ct
2 000	16	100 %	29,3	2,1 %	100 %	30,7	2,4 %	100 %	27,1	2,1 %
1 000	14	100 %	29,9	2,1 %	100 %	31,2	2,6 %	100 %	27,1	2,3 %
500	28	100 %	30,9	2,2 %	100 %	32,0	2,8 %	100 %	27,3	1,6 %
400	77	100 %	31,2	2,1 %	99 %	32,4	2,2 %	100 %	27,2	1,7 %
250	91	100 %	31,5	2,1 %	100 %	32,4	2,6 %	100 %	27,4	1,6 %
150	46	100 %	31,1	1,8 %	100 %	31,6	1,7 %	100 %	27,1	2,0 %
0	178	0 %	N/A (S.O.)	N/A (S.O.)	0 %	N/A (S.O.)	N/A (S.O.)	100 %	27,5	2,6 %

Tableau 16b. Reproductibilité et précision du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Cible	Concentration (cp/ml)	NeuMoDx 288 Molecular System				NeuMoDx 96 Molecular System			
		N	% positifs	Ct moy.	%CV de Ct	N	% positifs	Ct moy.	%CV de Ct
Cible N	2 000	12	100 %	29,3	2,3 %	4	100 %	29,3	1,4 %
	1 000	11	100 %	30,0	2,0 %	3	100 %	29,5	1,6 %
	500	21	100 %	30,8	2,2 %	7	100 %	31,1	1,7 %
	400	46	100 %	31,2	2,3 %	31	100 %	31,1	1,9 %
	250	45	100 %	31,7	2,0 %	46	100 %	31,3	2,0 %
	150	26	100 %	31,2	1,6 %	20	100 %	31,0	1,9 %
Cible NSP2	2000	12	100 %	30,7	2,3 %	4	100 %	30,8	2,6 %
	1000	11	100 %	31,3	2,5 %	3	100 %	26,8	0,4 %
	500	21	100 %	31,9	2,9 %	7	100 %	32,1	2,0 %
	400	46	100 %	32,4	2,4 %	31	97 %	32,3	2,0 %
	250	45	100 %	32,6	2,3 %	46	100 %	32,3	2,8 %
	150	26	100 %	31,7	1,8 %	20	100 %	31,5	1,6 %

Tableau 16c. Reproductibilité et précision globales du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay

Cible	Concentration (cp/ml)	Méthode DIRECTE				Méthode AVEC PRÉTRAITEMENT			
		N	% positifs	Ct moy.	%CV de Ct	N	% positifs	Ct moy.	%CV de Ct
Cible N	2 000	8	100 %	29,7	0,8 %	8	100 %	28,8	1,9 %
	1 000	7	100 %	30,5	0,7 %	7	100 %	29,4	1,2 %
	500	15	100 %	31,3	1,3 %	13	100 %	30,3	1,4 %
	400	63	100 %	31,4	1,8 %	14	100 %	30,3	1,0 %
	250	48	100 %	31,9	1,5 %	43	100 %	31,1	2,0 %
Cible NSP2	2000	8	100 %	31,2	1,3 %	8	100 %	30,1	1,9 %
	1000	7	100 %	31,9	0,6 %	7	100 %	30,4	1,5 %
	500	15	100 %	32,6	1,6 %	13	100 %	31,3	2,2 %
	400	63	98 %	32,6	1,6 %	14	100 %	31,4	2,0 %
	250	48	100 %	33,0	1,8 %	43	100 %	31,9	2,2 %

Performances cliniques
a. Tests d'échantillons artificiels : échantillons sur écouvillons nasopharyngés

Les performances du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay avec des échantillons sur écouvillons cliniques résiduels (écouvillons en nylon floqué collectés dans un milieu UTM [Copan Diagnostic Inc, CA] ou UVT [BD, NJ]) ont été évaluées à l'aide d'un panel de 82 échantillons cliniques négatifs et 87 échantillons cliniques positifs artificiels, précédemment soumis à des tests d'influenzavirus et/ou de virus respiratoire syncytial et provenant de patients avec des signes et symptômes d'infection des voies respiratoires supérieures. Les échantillons positifs artificiels ont été préparés par enrichissement d'échantillons cliniques négatifs avec de l'ARN génomique de SARS-CoV-2 (BEI Resources NR-52285). Sur les 87 échantillons positifs artificiels, 57 étaient à des concentrations de 1 à 2 × LoD et 30 étaient à des concentrations de 4 à 8 × LoD. Le traitement des échantillons a été effectué à l'aide des méthodes DIRECTE ET AVEC PRÉTRAITEMENT sur deux NeuMoDx Systems.

Tous les échantillons positifs ont été rapportés comme positifs et tous les négatifs comme négatifs, comme indiqué dans les *tableaux 17 à 20*.

Tableau 17. Échantillons sur écouvillons prétraités sur le NeuMoDx 288 Molecular System uniquement

Méthode avec prétraitement : NeuMoDx 288 Molecular System					
Concentration des échantillons	n	Cible 1 (gène NSP2)		Cible 2 (gène N)	
		% positifs (IC à 95 % bilatéral)	Ct moyen	% positifs (IC à 95 % bilatéral)	Ct moyen
225 cp/ml ~1,5 × LoD	12	100 (75,6 à 99,9)	32,5	100 (75,6 à 99,9)	32,2
400 cp/ml ~2,7 × LoD	11	100 (74,0 à 99,9)	31,4	100 (74,0 à 99,9)	30,2
500 cp/ml ~3,3 × LoD	10	100 (72,1 à 99,9)	31,2	100 (72,1 à 99,9)	30,2
1 000 cp/ml	5	100 (56,4 à 99,9)	30,5	100 (56,4 à 99,9)	29,4
2 000 cp/ml	6	100 (60,8 à 99,9)	30,2	100 (60,8 à 99,9)	28,8
Negative (Négatif)	29	0 (S.O.)	S.O.	0 (S.O.)	S.O.
Performances comparées aux résultats attendus : Pourcentage de concordance positive 44/44 = 100 % (IC à 95 % : 91,9 % à 100 %) Pourcentage de concordance négative 29/29 = 100 % (IC à 95 % : 88,2 % à 100 %)					

Tableau 18. Échantillons sur écouvillons prétraités sur le NeuMoDx 96 Molecular System uniquement

Méthode avec prétraitement : NeuMoDx 96 Molecular System					
Concentration des échantillons	n	Cible 1 (gène NSP2)		Cible 2 (gène N)	
		% positifs (IC à 95 % bilatéral)	Ct moyen	% positifs (IC à 95 % bilatéral)	Ct moyen
225 cp/ml ~1,5 × LoD	12	100 (75,6 à 99,9)	32,0	100 (75,6 à 99,9)	31,5
400 cp/ml ~2,7 × LoD	3	100 (43,7 à 99,8)	31,2	100 (43,7 à 99,8)	30,4
500 cp/ml ~3,3 × LoD	3	100 (43,7 à 99,8)	31,5	100 (43,7 à 99,8)	30,6
1 000 cp/ml	2	100 (34,2 à 99,8)	30,2	100 (34,2 à 99,8)	29,2
2 000 cp/ml	2	100 (34,2 à 99,8)	30,1	100 (34,2 à 99,8)	28,9
Negative (Négatif)	20	0 (S.O.)	S.O.	0 (S.O.)	S.O.
Performances comparées aux résultats attendus : Pourcentage de concordance positive 22/22 = 100 % (IC à 95 % : 85,0 % à 100 %) Pourcentage de concordance négative 20/20 = 100 % (IC à 95 % : 83,8 % à 100 %)					

Tableau 19. Échantillons sur écouvillons traités par méthode directe sur le NeuMoDx 288 Molecular System uniquement

Méthode directe : NeuMoDx 288 Molecular System					
Concentration des échantillons	n	Cible 1 (gène NSP2)		Cible 2 (gène N)	
		% positifs (IC à 95 % bilatéral)	Ct moyen	% positifs (IC à 95 % bilatéral)	Ct moyen
225 cp/ml ~1,5 × LoD	12	100 (75,6 à 99,9)	33,8	100 (75,6 à 99,9)	32,7
400 cp/ml ~2,7 × LoD	11	100 (74,0 à 99,9)	32,4	100 (74,0 à 99,9)	31,1
500 cp/ml ~3,3 × LoD	11	100 (74,0 à 99,9)	32,5	100 (72,1 à 99,9)	31,3
1 000 cp/ml	6	100 (60,8 à 99,9)	31,9	100 (56,4 à 99,9)	30,5
2 000 cp/ml	6	100 (60,8 à 99,9)	31,1	100 (60,8 à 99,9)	29,7
Negative (Négatif)	33	0 (S.O.)	S.O.	0 (S.O.)	S.O.
Performances comparées aux résultats attendus : Pourcentage de concordance positive 46/46 = 100 % (IC à 95 % : 92,2 % à 100 %) Pourcentage de concordance négative 33/33 = 100 % (IC à 95 % : 89,5 % à 100 %)					

Tableau 20. Échantillons sur écouvillons traités par méthode directe sur le NeuMoDx 96 Molecular System uniquement

Méthode directe : NeuMoDx 96 Molecular System					
Concentration des échantillons	n	Cible 1 (gène NSP2)		Cible 2 (gène N)	
		% positifs (IC à 95 % bilatéral)	Ct moyen	% positifs (IC à 95 % bilatéral)	Ct moyen
225 cp/ml ~1,5 × LoD	12	100 (75,6 à 99,9)	33,4	100 (75,6 à 99,9)	32,3
400 cp/ml ~2,7 × LoD	4	100 (50,9 à 99,9)	32,7	100 (50,9 à 99,9)	31,7
500 cp/ml ~3,3 × LoD	4	100 (50,9 à 99,9)	32,6	100 (50,9 à 99,9)	31,5
1 000 cp/ml	1	100 (20,7 à 99,8)	31,9	100 (20,7 à 99,8)	30,2
2 000 cp/ml	2	100 (34,2 à 99,8)	31,5	100 (34,2 à 99,8)	29,7
Negative (Négatif)	0	0 (S.O.)	N/A (S.O.)	0 (S.O.)	N/A (S.O.)
Performances comparées aux résultats attendus : Pourcentage de concordance positive 23/23 = 100 % (IC à 95 % : 85,6 % à 100 %) Pourcentage de concordance négative S.O.					

b. Tests d'échantillons artificiels – Échantillons de salive

Les performances du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay avec les échantillons de salive (préparés à l'aide du NeuMoDx Saliva Collection Kit) ont été évaluées sur un panel de 36 échantillons de donneurs négatifs. Chaque échantillon de donneur sain a été utilisé pour préparer un échantillon négatif et un échantillon positif artificiel, obtenu par enrichissement avec du virus SARS-CoV-2 traité par irradiation γ (BEI Resources NR-52287), pour un total de 72 échantillons à tester. Sur les 36 échantillons positifs artificiels, 28 étaient à une concentration de 1,5 à 2 × LoD, 4 à une concentration de 10 × LoD et 4 à une concentration de 20 × LoD. Le traitement des échantillons a été réalisé à l'aide de la méthode UserSpecified2 (Spécifié par l'utilisateur 2).

Tous les échantillons positifs ont été rapportés comme positifs et tous les négatifs comme négatifs, comme indiqué dans le *tableau 21*.

Tableau 21. Échantillons de salive sur le NeuMoDx 288 Molecular System

Concentration des échantillons	n	Cible 1 (gène NSP2)		Cible 2 (gène N)	
		% positifs (IC à 95 % bilatéral)	Ct moyen	% positifs (IC à 95 % bilatéral)	Ct moyen
0,01125 à 0,015 DICT50/ml (1,5 à 2 × LoD)	27	96 (81,7 à 99,3)	33,2	100 (87,6 à 100)	33,1
0,075 DICT50/ml (10 × LoD)	4	100 (51,0 à 100)	32,7	100 (51,0 à 100)	32,3
0,15 DICT50/ml (20 × LoD)	4	100 (51,0 à 100)	31,0	100 (51,0 à 100)	30,9
Negative (Négatif)	35	0 (S.O.)	S.O.	0 (S.O.)	S.O.

Performances comparées aux résultats attendus :

Pourcentage de concordance positive pour le gène NSP2	34/35 = 97,1 % (IC à 95 % : 85,5 % à 99,5 %)
Pourcentage de concordance négative pour le gène NSP2	35/35 = 100 % (IC à 95 % : 90,1 % à 100 %)
Pourcentage de concordance positive pour le gène N	35/35 = 100 % (IC à 95 % : 90,1 % à 100 %)
Pourcentage de concordance négative pour le gène N	35/35 = 100 % (IC à 95 % : 90,1 % à 100 %)
Pourcentage de concordance positive globale	35/35 = 100 % (IC à 95 % : 90,1 % à 100 %)
Pourcentage de concordance négative globale	35/35 = 100 % (IC à 95 % : 90,1 % à 100 %)

c. Tests d'échantillons cliniques : échantillons sur écouvillons nasopharyngés

Les performances du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay ont aussi été évaluées à l'aide d'échantillons cliniques. Des restes d'échantillons sur écouvillons nasopharyngés (NP) cliniques anonymisés provenant de patients symptomatiques ont été collectés avec des écouvillons à mini-embout floqué dans 3 ml de BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Les échantillons ont été soumis au test SARS-CoV-2 dans deux sites de tests externes, qui ont effectué des tests de comparaison de ces échantillons avec des tests précédemment autorisés par la FDA pour une utilisation d'urgence. Les tests avec le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay ont été réalisés dans un site interne et un site externe. Un total de 40 échantillons a été traité à l'aide du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay. Certains échantillons ont été testés sur les deux NeuMoDx Systems, N288 et N96, en utilisant la méthode DIRECTE et la méthode AVEC PRÉTRAITEMENT. Pour tous les échantillons cliniques testés, l'étude comparative a montré une concordance parfaite entre les résultats du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay et ceux des dosages de comparaison (*tableaux 22 et 23*).

Tableau 22. Résultats de la comparaison des méthodes qualitatives entre le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay sur les NeuMoDx Molecular Systems et les tests de référence – Méthode AVEC PRÉTRAITEMENT

N96 et N288 avec prétraitement		Dosage(s) de comparaison		
		Pos	Nég	Total
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos	25	0	25
	Nég	0	15	15
	Total	25	15	40
Sensibilité clinique 100 % (IC à 95 % 86,6 à 100 %)				
Spécificité clinique 100 % (IC à 95 % 79,5 à 99,9 %)				

Tableau 23. Résultats de la comparaison des méthodes qualitatives entre le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay et les tests de référence – Méthode DIRECTE : (a) sur le NeuMoDx 288 Molecular System (N288) et (b) sur le NeuMoDx 96 Molecular System (N96)

(a)

N288, méthode directe		Dosage(s) de comparaison		
		Pos	Nég	Total
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos	10	0	10
	Nég	0	9	9
	Total	10	9	19
Sensibilité clinique 100 % (IC à 95 % 72,1 à 99,9 %)				
Spécificité clinique 100 % (IC à 95 % 69,9 à 99,9 %)				

(b)

N96, méthode directe		Dosage(s) de comparaison		
		Pos	Nég	Total
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	Pos	5	0	5
	Nég	0	6	6
	Total	5	6	11
Sensibilité clinique 100 % (IC à 95 % 56,4 à 99,9 %)				
Spécificité clinique 100 % (IC à 95 % 60,8 à 99,9 %)				

d. Tests d'échantillons cliniques : échantillons de salive

Les performances du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay avec les échantillons de salive (préparés à l'aide du NeuMoDx Saliva Collection Kit) ont été évaluées sur 112 paires anonymisées d'échantillons prospectifs ou résiduels, chaque paire contenant un échantillon de salive et un échantillon nasopharyngé sur écouvillon (NP) collectés successivement chez le même patient. Les échantillons de salive prospectifs ont été collectés à l'aide du NeuMoDx Saliva Collection Kit, tandis que les échantillons de salive résiduels ont été collectés dans des flacons à échantillons sans conservateur et stockés à -80°C avec du NeuMoDx Saliva Stabilization Buffer jusqu'au test. Des échantillons sur écouvillons NP ont été collectés avec des écouvillons à mini-embout floqué dans 3 ml de BD Universal Viral Transport Medium (BD UVT). Tous les échantillons de salive et la plupart des échantillons sur écouvillons nasopharyngés (NP) ont été testés à l'aide du NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay et d'une combinaison des NeuMoDx Systems (N288 et N96). Le reste des échantillons NP a été traité à l'aide d'autres tests de comparaison ayant bénéficié d'une autorisation d'utilisation d'urgence (Emergency Use Authorization, EUA). Les tests ont été effectués dans un site interne et deux sites externes. Globalement, l'étude a démontré une concordance positive et négative supérieure à 95 % entre les échantillons sur écouvillons NP soumis aux tests de référence et les échantillons de salive soumis au NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay, comme indiqué dans le *tableau 24*.

Tableau 24. Résultats de la comparaison des méthodes qualitatives pour le NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay avec les échantillons de salive par rapport aux échantillons sur écouvillons NP

Concordance qualitative		Échantillons sur écouvillons NP		
		Pos	Nég	Total
Échantillons de salive	Pos	41	2	43
	Nég	2	67	69
	Total	43	69	112
Sensibilité clinique 95,4 % (84,5 % à 98,7 %)				
Spécificité clinique 97,1 % (90,0 % à 99,2 %)				

RÉFÉRENCES

- Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 6th edition. HHS Publication HHS Publication No. (CDC) 300859, Revised June 2020
- 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

NeuMoDx™ et NeuDry™ sont des marques commerciales de NeuMoDx Molecular, Inc.

Afrin® est une marque déposée de Bayer AG

Altoids™ est une marque commerciale de Callard and Bowser Limited

Aspirin™ est une marque déposée de Bayer AG

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

Crest® Pro-Health est une marque déposée de Procter and Gamble Company

Flonase® est une marque déposée de GlaxoSmithKline plc

Halls™ est une marque commerciale de Mondelēz International Group

Hamilton® est une marque déposée d'Hamilton Company

LISTERINE® est une marque déposée de Johnson & Johnson

Relenza® est une marque déposée de GlaxoSmithKline plc

Tamiflu® est une marque déposée de Genentech USA, Inc.

TaqMan® est une marque déposée de Roche Molecular Systems, Inc.

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













Wal-Tussin® est une marque déposée de Walgreens Company

Zicam® est une marque déposée de Matrixx Initiatives, 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

Les symboles suivants peuvent apparaître dans le mode d'emploi ou sur l'emballage et l'étiquetage :

R only	Sur ordonnance uniquement		Limite de température
	Fabricant		Ne pas réutiliser
IVD	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
REF	Numéro de référence		Attention
LOT	Code de lot		Risques biologiques
	À utiliser avant	CE	Marquage CE
	Risque pour la santé		Danger
	Limites d'humidité		



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



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



Support technique/Pour obtenir de l'aide : support.qiagen.com

Brevet : www.neumodx.com/patents