

Simplexa™ COVID-19 Direct

REF MOL4150

Rev. 02
(Français)

Test de RT-PCR en temps réel conçu pour la détection qualitative *in vitro* de l'ARN viral du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2 (SRAS-CoV-2).

**Pour diagnostic *in vitro*
Sur ordonnance uniquement**



APPLICATION

Le test de RT-PCR en temps réel Simplexa™ COVID-19 Direct de DiaSorin Molecular est conçu pour être utilisé sur le système LIAISON® MDX pour la détection qualitative *in vitro* de l'acide nucléique du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2 (SRAS-CoV-2) dans des échantillons de prélèvement nasopharyngé (NPS), de frottis nasal (NS), de lavage/aspiration nasal (NW) ou de lavage bronchoalvéolaire (BAL) provenant de personnes qu'un professionnel de santé soupçonne d'être atteintes de la COVID-19. Le test Simplexa™ COVID-19 Direct sert à faciliter le diagnostic des infections à SRAS-CoV-2.

Les résultats servent à l'identification de l'ARN du SRAS-CoV-2. L'ARN du SRAS-CoV-2 est généralement décelable dans les échantillons de lavage des voies respiratoires supérieures ou bronchoalvéolaires lors de la phase aiguë de l'infection. Un résultat positif est considéré comme un signe de la présence de l'ARN du SRAS-CoV-2 ; il est nécessaire de le mettre en rapport avec l'anamnèse du patient et d'autres renseignements diagnostiques afin de déterminer s'il s'agit bien d'une infection. Un résultat positif n'élimine pas la possibilité d'une infection bactérienne ou d'une co-infection par d'autres virus. L'agent détecté n'est pas nécessairement la cause définitive de la maladie. Les laboratoires sont tenus de signaler tout résultat positif aux autorités de santé publique concernées.

Un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection par SRAS-CoV-2 et ne doit pas constituer l'unique facteur décisionnel pour la prise en charge du patient. Les résultats négatifs doivent être utilisés en combinaison avec le tableau clinique, l'anamnèse du patient et les données épidémiologiques.

Le test Simplexa™ COVID-19 Direct est conçu pour être utilisé par le personnel de laboratoire clinique compétent ayant reçu une formation spécifique sur les techniques de PCR en temps réel et de diagnostic *in vitro*.

RÉSUMÉ EXPLICATIF

Le virus SRAS-CoV-2 (aussi appelé virus du COVID-19) est un coronavirus bêta de la famille des Coronavirus, ainsi dénommés du fait des spicules formant une couronne que l'on observe à la surface de ces virus. Il existe quatre principaux sous-groupes de coronavirus : alpha, bêta, gamma et delta. Les coronavirus humains les plus courants sont 229E (alpha), NL63 (alpha), OC43 (bêta) et HKU1 (bêta), qui provoquent généralement des maladies des voies respiratoires supérieures légères à modérées, comme un rhume^{1,2,3}. D'autres coronavirus humains tels que MERS-CoV (le coronavirus bêta responsable du syndrome respiratoire du Moyen-Orient ou MERS) et SRAS-CoV (le coronavirus bêta responsable du syndrome respiratoire aigu sévère ou SRAS) ont causé des maladies respiratoires plus sévères présentant un taux plus élevé de morbidité et de mortalité. Le SRAS-CoV-2 est un nouveau coronavirus qui est responsable de la maladie à coronavirus de 2019 appelée COVID-19. SRAS-CoV-2 a provoqué un premier foyer d'infection en décembre 2019 dans la ville de Wuhan, dans la province de Hubei en Chine, et s'est ensuite propagé au niveau mondial, si bien que l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a déclaré une pandémie^{2,4}. Les patients atteints de COVID-19 ont été atteints de maladies respiratoires légères à sévères avec des symptômes de fièvre, de toux et d'essoufflement, et de nombreux patients ont connu des complications telles qu'une pneumonie dans les deux poumons⁵.

PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le test Simplexa™ COVID-19 Direct de DiaSorin Molecular est un système de RT-PCR en temps réel permettant l'amplification directe de l'ARN du coronavirus SRAS-CoV-2 provenant d'échantillons de prélèvement nasopharyngé (NPS), de frottis nasal (NS), de lavage/aspiration nasal (NW) ou de lavage bronchoalvéolaire (BAL). Ce système comporte le test Simplexa™ COVID-19 Direct, l'appareil LIAISON® MDX (avec le logiciel LIAISON® MDX Studio), le disque d'amplification Direct Amplification Disc et les accessoires connexes.

Au cours du test Simplexa™ COVID-19 Direct, des sondes fluorescentes sont utilisées conjointement avec des amorces directes et inverses correspondantes pour amplifier l'ARN du virus SRAS-CoV-2 et l'ARN de contrôle interne. Le test cible deux régions du génome de SRAS-CoV-2 : l'ORF1ab et le gène S. Le gène S, qui encode la glycoprotéine des spicules du virus SRAS-CoV-2 responsable de la maladie COVID-19, est ciblé pour détecter spécifiquement la présence de SRAS-CoV-2. La région ORF1ab encode des protéines non structurales bien conservées. Elle est donc moins susceptible d'être sujette à recombinaison. Un ARN de contrôle interne est utilisé pour détecter un échec et/ou une inhibition de la RT-PCR.

MATÉRIEL FOURNI

Le test Simplexa™ COVID-19 Direct contient suffisamment de réactifs pour 24 réactions. Dès réception, conserver à une température comprise entre -10 °C et -30 °C (ne pas utiliser de congélateur à dégivrage automatique). Chaque flacon contient suffisamment de réactif pour une réaction. Utiliser dans les trente (30) minutes suivant la décongélation.

DESCRIPTION DE LA TROUSSE

Nom du composant	REF	SYMBOLE CE SUR L'ÉTIQUETTE		Nom abrégé	Couleur du bouchon	Nombre de flacons	Réactions par flacon/trousse	Volume par flacon
Simplexa™ COVID-19 Direct Reaction Mix	MOL4151	REAG	C	Co19	Brun	24	1/24	50 µl

DESCRIPTION DES COMPOSANTS

Composant de la trousse	Contenu				
Simplexa™ COVID-19 Direct Reaction Mix (RM) (mélange réactionnel)	ADN polymérase, transcriptase inverse, inhibiteur de l'ARNase, tampon, dNTP, matrice d'ARN encapsulée, sondes fluorescentes et amorces directes et inverses correspondantes spécifiques pour la détection de l'ARN du virus SRAS-CoV-2 et de l'ARN du témoin interne.				
	Cible	Fluorophore de la sonde (marqueur)	Excitation (nm)	Émission (nm)	Gène ciblé
	Gène S	FAM	495	520	Gène S
	ORF1ab	JOE	520	548	ORF1ab
	Témoin interne d'ADN (RNA IC)	Q670	644	670	S/O
Carte à code-barres Simplexa™ COVID-19 Direct	Paramètres spécifiques au test et informations sur le lot				

MATÉRIEL FOURNI SÉPARÉMENT

- Direct Amplification Disc Kit (REF) MOL1455)
 - Disques pour amplification Direct Amplification Discs utilisables sur l'appareil LIAISON® MDX

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Appareil LIAISON® MDX avec logiciel LIAISON® MDX Studio version 1.1 ou plus récente.
- Simplexa™ COVID-19 Positive Control Pack (REF) MOL4160).
- Pipette à volume fixe de 50 µl (pipette ergonomique haute performance à volume fixe VWR Signature™, modèle VWR FE50 ou équivalent).
- Embouts de pipette à filtre, stériles et exempts de nucléases, à usage unique (des embouts extra-longs ≥ 91 mm sont recommandés pour le pipetage direct à partir des tubes de prélèvement d'origine).
- Congélateur (à dégivrage manuel) entre -10 °C et -30 °C (pour stockage des composants congelés de la trousse et/ou des échantillons).
- Réfrigérateur entre 2 °C et 8 °C (pour échantillons).
- Gants à usage unique, non poudrés.
- Vortex pour le mélange des échantillons de patients.
- Centrifuger afin de recueillir le contenu dans le fond des tubes.

MATÉRIEL RECOMMANDÉ

- Universal Transport Media (UTM, Copan) ou Universal Viral Transport (UVT, BD) à utiliser comme témoin sans matrice (NTC, No Template Control).

MANIPULATION ET STOCKAGE DES RÉACTIFS

- Conserver les réactifs entre -10 °C et -30 °C (ne pas utiliser de congélateur à dégivrage automatique).
- Laisser les réactifs décongeler à température ambiante (entre environ 18 °C et 25 °C) avant utilisation.
- Ne pas utiliser les trousse ou les réactifs au-delà de leur date de péremption.
- Après avoir retiré le mélange réactionnel du congélateur, commencer le test dans les trente (30) minutes.
- Ne pas mélanger le mélange réactionnel au vortex.
- Ne pas recongeler le mélange réactionnel.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

1. Réservé à l'utilisation en vertu de l'Arrêté d'urgence d'approbation 313264.
2. Pour diagnostic *in vitro*.
3. Pour usage professionnel uniquement.
4. Porter un équipement individuel de protection comme (entre autres) des gants et une blouse de laboratoire lors de la manipulation des réactifs de la trousse et de l'équipement. Se laver soigneusement les mains après avoir réalisé le test.
5. Ne pas pipeter à la bouche.
6. Ne pas fumer, boire, manger, manipuler des lentilles de contact ou se maquiller dans les zones où des réactifs de la trousse ou des échantillons d'origine humaine sont utilisés.
7. Éliminer les réactifs de la trousse non utilisés ainsi que les échantillons d'origine humaine conformément aux règlements locaux, provinciaux et fédéraux.
8. Traiter tous les échantillons et les disques comme étant potentiellement capables de transmettre des agents infectieux.
9. La contamination des échantillons de patients ou des réactifs peut entraîner des résultats erronés. Utiliser des bonnes pratiques de laboratoire et contrôler le flux de travail^{6,7}.
10. Utiliser uniquement le protocole décrit dans la présente notice. Des écarts par rapport au protocole ou l'utilisation de temps et de températures autres que ceux indiqués pourraient entraîner des résultats erronés.
11. La préparation d'un test doit être effectuée à température ambiante (entre environ 18 °C et 25 °C).
12. Utiliser des pipettes étalonnées à volume fixe ou l'équivalent pour transférer les échantillons et le mélange réactionnel.
13. Éviter de toucher l'envers du film adhésif qui entrera en contact avec les puits et la surface du disque.
14. Pour éviter des résultats erronés, s'assurer que l'échantillon et le réactif sont ajoutés aux puits appropriés.
15. Terminer de charger les puits d'un groupe de puits d'échantillons et de réaction et recouvrir celui-ci du film adhésif avant de détacher le film d'un groupe adjacent.
16. Démarrer la série dans les trente (30) minutes après avoir retiré le flacon de mélange réactionnel du congélateur.
17. Ne pas tenter de détacher le film adhésif d'un secteur déjà utilisé ou de réutiliser des puits d'échantillons et de réaction qui ont déjà été employés pour une série précédente.
18. Les disques peuvent être réutilisés jusqu'à ce que les huit (8) secteurs aient tous été utilisés. Éliminer les disques utilisés dans un récipient pour déchets biologiques sans détacher l'adhésif qui les recouvre.
19. Après chaque utilisation, ranger le disque Direct Amplification Disc à plat avec le film numéroté sur le dessus.
20. Stocker les réactifs à l'abri de la lumière.
21. Le mélange réactionnel contient plus de 1 % de glycérol. Les mesures de premiers soins doivent être prises en cas d'inhalation ou de contact avec la peau.
22. Si l'emballage ou le contenu de la trousse semblent être déchirés ou endommagés, ne pas utiliser le produit et communiquer avec DiaSorin Molecular. Les coordonnées sont indiquées à la dernière page du présent document.
23. La matrice spectrale doit être installée dans chaque appareil LIAISON® MDX et ne doit pas être modifiée, sauf si un code QR actualisé pour l'appareil est fourni par DiaSorin Molecular. La matrice spectrale est unique à chaque appareil LIAISON® MDX. La matrice spectrale a été fournie avec l'appareil LIAISON® MDX sur la couverture du manuel de l'appareil. S'il n'est pas possible de balayer l'étiquette de la matrice ou si elle est introuvable, communiquer avec le service technique de DiaSorin Molecular. Les coordonnées sont indiquées à la dernière page du présent document.
24. La non-installation ou la modification de la matrice spectrale peut entraîner des résultats erronés.

MODE D'EMPLOI

A. SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Les types d'échantillons acceptables sont les suivants :

- prélèvements nasopharyngés (NPS) ou frottis nasaux (NS) dans un milieu de type Universal Transport Media (UTM) de Copan, Universal Viral Transport (UVT) de BD ou équivalent, Remel M5, Remel M6, Copan ESwab™ (Liquid Amies), Puritan® UniTranz-RT® ou dans une solution saline (chlorure de sodium à 0,9 % dans l'eau). Utiliser uniquement des écouvillons avec embout synthétique (par exemple Dacron, nylon, ou rayonne) et une tige en aluminium ou en plastique. Ne pas utiliser d'écouvillons à l'alginate de calcium, car ils peuvent contenir des substances qui empêchent l'étude par PCR.
- Lavage bronchoalvéolaire (BAL) non dilué ou dilué 1:1 (v/v) dans un agent mucolytique comme Remel Sputasol.
- Lavage/aspiration nasal (NW) non dilué.

Les échantillons transportés sur de la glace peuvent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 C pendant un maximum de trois (3) jours Les échantillons peuvent être congelés à ≤ -70 °C si on s'attend à un retard d'expédition ou de réalisation du test.¹

B. CONFIGURATION DE L'APPAREIL DE PCR EN TEMPS RÉEL

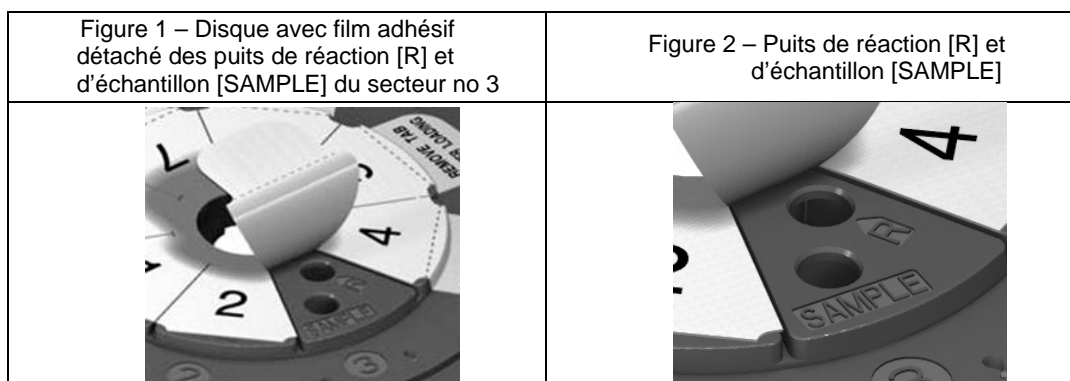
Consulter le Guide de l'utilisateur de l'appareil LIAISON® MDX pour plus de détails sur la façon de configurer le logiciel LIAISON® MDX Studio pour ajouter une définition de tests, régler une série de tests et analyser les séries sur l'appareil LIAISON® MDX.

¹ Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for COVID-19. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html>. 8 octobre 2020.

C. CHARGEMENT DU DISQUE DIRECT AMPLIFICATION DISC ET AMPLIFICATION PAR PCR EN TEMPS RÉEL

REMARQUE : Aucune extraction des échantillons n'est nécessaire avant l'étape d'amplification par PCR.

1. Sélectionner les échantillons à analyser.
2. Décongeler les flacons de mélange réactionnel à température ambiante (entre environ 18 °C et 25 °C). Décongeler un (1) flacon de mélange réactionnel pour chaque échantillon ou témoin à analyser.
3. Balayer le code-barres sur le flacon de mélange réactionnel Simplexa™ COVID-19 Direct Reaction Mix ou sur la carte à code-barres.
4. Balayer le code-barres du Direct Amplification Disc (DAD).
5. Balayer l'identificateur de chaque échantillon ou le saisir à l'aide du clavier.
6. Un secteur à la fois, détachez partiellement le film adhésif pour exposer les puits de l'échantillon (SAMPLE) et de la réaction (R), sans pour autant retirer entièrement le film adhésif (Figures 1 et 2). Éviter de toucher l'envers du film adhésif qui entrera en contact avec les puits et la surface du disque.
7. Vérifier que le mélange réactionnel est bien décongelé. Centrifuger les tubes brièvement au besoin. (Ne pas mélanger le mélange réactionnel au vortex)
8. Utiliser la pipette à volume fixe pour transférer 50 µl du mélange réactionnel dans le puits de réaction (R).
9. Utilisez la pipette à volume fixe pour transférer 50 µl d'échantillon ou de contrôle ; placez l'échantillon ou le contrôle dans le puits de réaction (SAMPLE).
10. Recouvrir le secteur pour sceller les puits à l'aide du film adhésif détaché plus haut, en appuyant fermement près du bord du secteur. Si le film adhésif d'origine est déchiré, ne pas charger les puits de ce secteur. Charger plutôt un autre secteur.
11. Détacher la bandelette du film adhésif en suivant les perforations.
12. Répéter les étapes 6 à 11 pour le ou les échantillons suivants.
13. Charger le DAD scellé dans l'appareil LIAISON® MDX et démarrer la série.



REMARQUES (à titre d'information – aucune action ou interprétation de l'utilisateur n'est requise) :

1. Les trousse de DiaSorin Molecular peuvent contenir des numéros de version pour les définitions de tests. Si un numéro de version existe, il sera annexé à la définition du test, par exemple « Sample IVD Assay.2 ». Quand plusieurs versions existent, le logiciel utilisera automatiquement la définition du test associée au numéro de lot balayé.

CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

La trousse Simplexa™ COVID-19 Positive Control Pack (MOL4160) peut être utilisée comme témoin externe pour les tests de contrôle de la qualité (CQ), pour les formations ou pour l'évaluation des capacités de l'utilisateur. Chaque laboratoire doit définir ses propres plages de CQ et la périodicité des tests de CQ en fonction des lois et des règlements locaux et des bonnes pratiques de laboratoire habituelles applicables. Consulter la notice de la trousse Simplexa™ COVID-19 Positive Control Pack (IFUC.CF.MOL4160) pour savoir comment analyser le témoin positif.

Résultats attendus des contrôles de qualité

Type de témoin	Cible ORF1ab	Cible gène S	Contrôle interne de type ARN (RNA IC)
Simplexa™ COVID-19 Positive Control ¹	Positif	Positif	Sans objet ²
Témoin sans matrice (NTC)	Négatif	Négatif	Valide

¹ Les valeurs habituelles de Ct pour le témoin positif sont comprises entre 22 et 32.

² La détection du témoin Simplexa™ RNA Internal Control (RNA IC) n'est pas requise pour que le résultat soit valide lorsque SRAS-CoV-2 est détecté.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Une fois la série terminée, le logiciel calcule automatiquement les résultats et les affiche.

- Pour chaque ID d'accèsion (ID d'échantillon) saisi, le logiciel affiche un résultat [« Positive » (Positif), « Negative » (Négatif), « Invalid » (Non valide) ou « EC500, EC505 ou EC515 »] pour l'ARN de SRAS-CoV-2.

Résultats		Interprétation
Régions cibles de SRAS-CoV-2		
ORF1ab	Gène S	
Positif	Positif	Le résultat indique la présence d'ARN du SRAS-CoV-2 dans l'échantillon du patient.
Positif	----	Le résultat indique la présence d'ARN du SRAS-CoV-2 dans l'échantillon du patient.*
----	Positif	Le résultat indique la présence d'ARN du SRAS-CoV-2 dans l'échantillon du patient.*
Négatif	Négatif	Le résultat indique la présence d'ARN du SRAS-CoV-2 dans l'échantillon du patient.
Invalid (Non valide)		Le résultat indique l'incapacité d'affirmer de façon formelle la présence ou l'absence d'ARN du SRAS-CoV-2 dans l'échantillon du patient. Ce résultat peut être provoqué par 1) un échec du témoin interne (DNA IC) ou 2) un échec de détection d'un volume suffisant d'échantillon. L'échantillon doit alors être analysé à nouveau. Consulter la section « Résultats non valides » ci-dessous.
EC500		Erreur de traitement des données provoquée par du bruit ou des amplifications faibles ou tardives dans le signal. Analyser l'échantillon à nouveau. Si le problème persiste, communiquer avec le service technique.
EC505		Pas suffisamment d'informations pour déterminer si une amplification était présente. Si le problème persiste, communiquer avec le service technique.
EC515		L'amplification du témoin interne n'est pas conforme aux spécifications. Le résultat n'est pas valide; analyser l'échantillon à nouveau. Si le problème persiste, communiquer avec le service technique.

*Un résultat positif pour une cible de SRAS-CoV-2 et négatif pour l'autre cible de SRAS-CoV-2 peut être du à : 1) un échantillon dont la concentration est inférieure à la limite de détection du test ou proche de celle-ci ; 2) une mutation dans l'une des régions cibles, ou 3) d'autres facteurs.

- Imprimer le rapport s'il y a lieu.
- Exportez les résultats si besoin.

RÉSULTATS NON VALIDES

En cas de résultat « Invalid » (non valide), analyser l'échantillon à nouveau en utilisant un nouveau flacon de mélange réactionnel de la même trousse ou d'une nouvelle trousse. Si le problème persiste, communiquer avec le service technique de DiaSorin Molecular. Les coordonnées de contact sont indiquées à la dernière page de ce document.

LIMITES

- Réservé à l'utilisation en vertu de l'Arrêté d'urgence d'approbation 313264.
- Pour diagnostic *in vitro*.
- Pour usage professionnel uniquement.
- Des résultats faussement négatifs peuvent survenir si les particules virales sont présentes à un taux inférieur à la sensibilité analytique du test, si le virus présente des mutations, des insertions, des délétions ou des réarrangements de son génome ou si le test est réalisé très tôt au cours de la maladie.
- Comme c'est le cas pour d'autres tests, des résultats faussement positifs peuvent survenir. Dans certains cas, une répétition du test ou une reprise du test à l'aide d'un autre appareil peut être indiquée.
- Ce test est un test qualitatif et ne fournit pas de valeurs quantitatives pour les organismes détectés.
- Les informations du code-barres de la trousse ne peuvent être transmises au logiciel LIAISON MDX® Studio qu'au moyen d'un lecteur de code-barres. Si le lecteur ne fonctionne pas ou si le transfert des informations est impossible pour quelque raison que ce soit, communiquer avec le service technique de DiaSorin Molecular.

CARACTÉRISTIQUES DES PERFORMANCES

ÉVALUATION CLINIQUE

La performance clinique du test Simplexa™ COVID-19 Direct a été établie par des évaluations cliniques multi-sites. Des échantillons nasopharyngés fraîchement prélevés ont été analysés avec le test Simplexa™ COVID-19 Direct sur trois (3) sites cliniques distincts entre février 2020 et mars 2020. Sur chacun des sites, un comparateur validé a été utilisé. Les sites 1 et 3 ont utilisé le même comparateur et le site 2 un comparateur différent. Des échantillons négatifs de frottis nasaux (NS) ou de lavage/aspiration nasal (NW) prélevés individuellement et des échantillons artificiels positifs ont été testés en interne à l'aide du test Simplexa™ COVID-19 Direct en avril ou mai 2020. Les échantillons artificiels ont été préparés par enrichissement des échantillons négatifs de frottis nasaux (NS) ou de lavage/aspiration nasal (NW) individuels avec la souche 2019-nCoV/USA-WA1/2020 inactivée par la chaleur (ATCC® [VR-1986HK™]). Des échantillons de lavage bronchoalvéolaire (BAL), dilués 1:1 dans du Sputasol, ont été testés à l'aide du test Simplexa™ COVID-19 Direct dans un site clinique et avec un comparateur validé.

Concordance clinique du test Simplexa™ COVID-19 Direct

Simplexa™ COVID-19 Direct		Comparateur		Concordance*, ** N/N (%)	
		Positif (+)	Négatif (-)		
NPS	Centre 1	Positif (+)	1	0	PCP : 1/1 (100 %)
		Négatif (-)	0	20	PCN : 20/20 (100 %)
		Total pour le site	1	20	
	Centre 2	Positif (+)	11	0	PCP : 11/11 (100 %)
		Négatif (-)	0	0	PCN : 0/0 (100 %)
		Total pour le site	11	0	
	Centre 3	Positif (+)	40	0	PCP : 40/40 (100 %)
		Négatif (-)	0	36	PCN : 36/36 (100 %)
		Total pour le site	40	36	
NS	Centre 4	Positif (+)	30	0	PCP : 30/30 (100 %)
		Négatif (-)	0	30	PCN : 30/30 (100 %)
		Total pour le site	30	30	
NW	Centre 4	Positif (+)	29	0	PCP : 29/30 (96,7 %)
		Négatif (-)	1	30	PCN : 30/30 (100 %)
		Total pour le site	30	30	
BAL	Centre 1	Positif (+)	11	0	PCP : 11/11 (100%)
		Négatif (-)	0	7	PCN : 7/7 (100%)
		Total pour le site	11	7	

PCN = Pourcentage de correspondance négative, PCP = Pourcentage de correspondance positive

**La concordance (PCP et PCN) des échantillons de NS et de NW a été déterminée par comparaison aux résultats attendus.

SENSIBILITÉ ANALYTIQUE / LIMITE DE DÉTECTION

La limite de détection (LdD) des échantillons de NPS a été établie comme étant la plus faible concentration détectable d'ARN génomique viral extrait quantifié (copies/ml) pour laquelle ≥ 95 % de tous les réplicats donnent un résultat positif. Initialement, la LdD provisoire a été déterminée par dilution en série de l'ARN génomique du virus SRAS-CoV-2 caractérisé et testé en cinq (5) réplicats pendant la conception et le développement du test. La plus faible concentration à laquelle tous les réplicats ont été positifs a été considérée comme étant la limite de détection provisoire. La LdD a ensuite été confirmée en testant quarante-huit (48) réplicats à des concentrations à la limite de détection provisoire. La LdD finale a été confirmée comme étant la plus faible concentration permettant une détection positive avec un minimum de positivité de 95 %.

L'interprétation des résultats des tests indique que la LdD finale pour les échantillons de prélèvement nasopharyngé est de 500 copies/ml.

Sensibilité analytique / Limite de détection

ARN génomique de COVID-19 Copies/ml	Interprétation	Gène S (FAM)		ORF1ab (JOE)	
		% de détection (Nbre détecté/Nbre testé)	Ct moyen \pm É.-T. (% CV)	% de détection (Nbre détecté/Nbre testé)	Ct moyen \pm É.-T. (% CV)
2000	100 % (48/48) Positif	100 % (48/48)	31,0 \pm 0,64 (2,1 %)	100 % (48/48)	31,3 \pm 0,74 (2,4 %)
1000	100 % (48/48) Positif	95,8 % (46/48)	32,4 \pm 1,01 (3,1 %)	93,8 % (45/48)	32,7 \pm 1,08 (3,3 %)
500	100 % (48/48) Positif	95,8 % (46/48)	33,4 \pm 1,31 (3,9 %)	70,8 % (34/48)	33,9 \pm 0,98 (2,9 %)

La limite de détection (LdD) pour les frottis nasaux (NS) a été établie comme étant la plus faible concentration détectable de particules virales de COVID-19 inactivées et titrées (souche 2019-nCoV/USA-WA1/2020) pour laquelle $\geq 95\%$ de tous les réplicats donnent un résultat positif selon l'algorithme d'interprétation des résultats pour des lots combinés d'échantillons de NS négatifs dans de l'UTM. Initialement, la LoD provisoire a été identifiée par dilution en série de particules virales testées sur quatre (4) réplicats. La plus faible concentration à laquelle tous les réplicats ont été positifs a été considérée comme étant la limite de détection provisoire. La LoD a ensuite été confirmée en testant vingt (20) réplicats à des concentrations à la limite de détection provisoire. La LdD finale a été confirmée comme étant la plus faible concentration permettant une détection positive avec un minimum de positivité de 95 %.

L'interprétation des résultats des tests indique que la LoD finale pour les frottis nasaux est de 242 copies/ml.

Limite de détection du test Simplexa™ COVID-19 Direct pour les particules virales inactivées dans une matrice de frottis nasaux dans de l'UTM

Copies du génome de COVID-19/ml	Interprétation	Gène S (FAM)		ORF1ab (JOE)	
		% de détection (Nbre détecté/Nbre testé)	Ct moyen \pm É.-T. (% CV)	% de détection (Nbre détecté/Nbre testé)	Ct moyen \pm É.-T. (% CV)
242	100 % (20/20) Positif	80 % (16/20)	34,0 \pm 0,83 (2,4 %)	80 % (16/20)	32,9 \pm 0,75 (2,3 %)

La limite de détection (LoD) pour les échantillons de lavage/aspiration nasal (NW) a été établie comme étant la plus faible concentration détectable de particules virales de COVID-19 inactivées et titrées (souche 2019-nCoV/USA-WA1/2020) pour laquelle $\geq 95\%$ de tous les réplicats donnent un résultat positif dans une matrice d'échantillons de NW négatifs combinés. Initialement, la LoD provisoire a été identifiée par dilution en série de particules virales testées sur quatre (4) réplicats. La plus faible concentration à laquelle tous les réplicats ont été positifs a été considérée comme étant la limite de détection provisoire. La LdD a ensuite été confirmée en testant vingt (20) réplicats à des concentrations à la limite de détection provisoire. La LdD finale a été confirmée comme étant la plus faible concentration permettant une détection positive avec un minimum de positivité de 95 %.

L'interprétation des résultats des tests indique que la LoD finale pour les lavage/aspiration nasal est de 500 copies/ml.

Limite de détection du test Simplexa™ COVID-19 Direct pour les particules virales inactivées dans une matrice de lavage/aspiration nasal

Copies du génome de COVID-19/ml	Interprétation	Gène S (FAM)		ORF1ab (JOE)	
		% de détection (Nbre détecté/Nbre testé)	Ct moyen \pm É.-T. (% CV)	% de détection (Nbre détecté/Nbre testé)	Ct moyen \pm É.-T. (% CV)
500	100 % (20/20) positifs	85,0 % (17/20)	33,1 \pm 1,01 (3,0 %)	95,0 % (19/20)	32,3 \pm 0,89 (2,8 %)

La limite de détection (LdD) pour les lavages bronchoalvéolaires (BAL) a été établie comme étant la plus faible concentration détectable de particules virales de COVID-19 inactivées et titrées (souche 2019-nCoV/USA-WA1/2020) pour laquelle $\geq 95\%$ de tous les réplicats donnent un résultat positif dans une matrice de BAL négatifs combinés. Initialement, la LoD provisoire a été identifiée par dilution en série de particules virales testées sur quatre (4) réplicats. La plus faible concentration à laquelle tous les réplicats ont été positifs a été considérée comme étant la limite de détection provisoire. La LdD a ensuite été confirmée en testant vingt (20) réplicats à des concentrations à la limite de détection provisoire. La LdD finale a été confirmée comme étant la plus faible concentration permettant une détection positive avec un minimum de positivité de 95 %.

L'interprétation des résultats des tests indique que la LoD finale pour les lavages bronchoalvéolaires est de 2000 copies/ml.

Limite de détection du test Simplexa™ COVID-19 Direct pour les particules virales inactivées dans une matrice de BAL

Copies du génome de COVID-19/ml	Interprétation	Gène S (FAM)		ORF1ab (JOE)	
		% de détection (Nbre détecté/Nbre testé)	Ct moyen \pm É.-T. (% CV)	% de détection (Nbre détecté/Nbre testé)	Ct moyen \pm É.-T. (% CV)
2000	100 % (20/20) positifs	90,0 % (18/20)	32,8 \pm 0,99 (3,0 %)	95 % (19/20)	32,2 \pm 0,96 (3,0 %)

RÉACTIVITÉ/INCLUSIVITÉ

Une analyse d'inclusivité *in silico* des amorces et des sondes du test Simplexa™ COVID-19 Direct a été réalisée. Tous les ensembles d'amorces destinés à la détection de l'ORF1ab et du gène S ont été testés par rapport à la séquence complète du génome du SRAS-CoV-2 connue. Cette analyse a montré que les régions reconnues par les amorces et les élaborées conçues ont 100% d'homologie avec toutes les séquences du SRAS-CoV-2 qui se trouvent dans les bases de données/banques de données du NCBI (National Center for Biotechnology Information) et de l'Initiative mondiale de partage des données sur la grippe aviaire (Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data ou GISAID).

Base de données	Identité avec l'ORF1ab		Identité avec le gène S	
	Amorces (%)	Sonde (%)	Amorces (%)	Sonde (%)
NCBI	52/52 (100 %)	52/52 (100 %)	53/53 (100 %)	53/53 (100 %)
GISAID	352/352 (100 %)	350/352 (99 %)	364/364 (100 %)	364/364 (100 %)

RÉACTIVITÉ CROISÉE

La réactivité croisée du test Simplexa™ COVID-19 Direct a été évaluée par une analyse *in silico* et par l'analyse d'organismes entiers ou d'acides nucléiques purifiés à partir d'autres organismes. Les échantillons pour les tests de laboratoire ont été préparés par ajout d'isolats de culture, d'organismes inactivés ou d'acides nucléiques purifiés (génome entier) (c.-à-d. un minimum de 10⁶ UFC/ml ou plus pour les bactéries et de 10⁵ TCID₅₀/ml ou UFP/ml ou plus pour les virus) à des matrices négatives (UTM) afin de déterminer la réactivité croisée selon les résultats de trois réplicats. L'inhibiteur RNasin® a été ajouté à l'UTM pour les spécimens contenant de l'ARN extrait. Les résultats de la réactivité croisée *in silico* et dans les tests de laboratoire sont résumés ci-dessous.

Analyse de réactivité croisée *in silico*

Micro-organisme	Analyse <i>in silico</i> pour le % d'identité, cible : ORF1ab	Analyse <i>in silico</i> du % d'identité avec la cible : Gène S
Coronavirus humain 229E	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Coronavirus humains OC43	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Coronavirus humains HKU1	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Coronavirus humains NL63	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Coronavirus du SRAS*	90 %	80 %
Coronavirus du SRMO	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Adénovirus C	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Métapneumovirus humain (hMPV)	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Virus parainfluenza 1	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Virus parainfluenza 2	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Virus parainfluenza 3	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Virus parainfluenza 4	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Virus de la grippe A	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Virus de la grippe B	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Entérovirus (par ex. EV68)	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Virus respiratoire syncytial	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé

Micro-organisme	Analyse <i>in silico</i> pour le % d'identité, cible : ORF1ab	Analyse <i>in silico</i> du % d'identité avec la cible : Gène S
Rhinovirus	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Chlamydia pneumonia</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Haemophilus influenzae</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Streptococcus pneumonia</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Bordetella pertussis</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP)	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Virus de la grippe C	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
Paréchovirus	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Candida albicans</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Legionella pneumophila</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Legionella non-pneumophila</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Bacillus anthracis</i> (Anthrax)	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Neisseria elongata</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Neisseria meningitidis</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Staphylococcus epidermis</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Streptococcus salivarius</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Leptospire</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Chlamydia psittaci</i>	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé
<i>Coxiella burnetii</i> (fièvre Q)	Aucun alignement observé	Aucun alignement observé

* Le pourcentage (%) d'homologie indiqué dans ce tableau se réfère au gène cible. Étant donné que l'homologie ne dépasse pas 55 % entre les amorces et la région ORF1ab et le gène S du coronavirus du SRAS, l'amplification n'est pas possible.

Analyse de réactivité croisée testée en laboratoire

Organisme	Résultats qualitatifs : % de détection (Nbre détecté/Nbre testé)		
	Gène S (FAM)	ORF1ab (JOE)	IC (Q670)
Adénovirus 1	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
<i>Bordetella pertussis</i>	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Coronavirus 229E	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Coronavirus HKU1*	S/O	S/O	S/O
Coronavirus NL63	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Coronavirus OC43	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Entérovirus 68	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
<i>Haemophilus influenzae</i>	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Métapneumovirus humain (hMPV-9)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Leucocytes humains (ADN génomique humain)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Influenza A H3N2 Hong Kong/8/68	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Influenza B/Phuket/3073/2013	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
<i>Legionella pneumophila</i>	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Coronavirus du MERS (ARN extrait)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (ADN génomique)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Parainfluenza, type 1	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Parainfluenza, type 2	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Parainfluenza, type 3	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Parainfluenza, type 4A	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Fluide nasal humain combiné	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Rhinovirus B14	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
RSV A Long	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
RSV B Washington	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Coronavirus du SRAS (ARN purifié)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
Coronavirus du SRAS HKU39849 (ARN extrait)	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0 % (0/3)	0 % (0/3)	100 % (3/3)

* Il n'a pas été possible d'obtenir du coronavirus HKU1 pour le test ; cet organisme a toutefois été évalué *in silico*. Aucun alignement n'a été observé avec les amorces et les sondes du test Simplexa™ COVID-19 Direct.

SUBSTANCES POTENTIELLEMENT INTERFÉRENTES

Des substances susceptibles de causer des interférences et d'être présentes dans les échantillons respiratoires ont été testées pour leur capacité à générer des résultats faux négatifs en utilisant des échantillons contenant l'ARN viral extrait à 3x la LdD dans de l'eau exempte de nucléases. Les tests ont été réalisés sur 3 réplicats par substance.





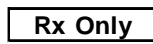








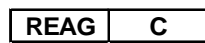



Substance potentiellement interférente	Ingrédient actif	Concentration testée	% de détection qualitative du COVID-19 (Nbre détecté/ Nbre testé)	% de détection qualitative du témoin interne (Nbre détecté/ Nbre testé)
Antibactérien systémique	Tobramycine	4 µg/ml	100 % (3/3)	100 % (3/3)
Antibiotique, pommade nasale	Bactroban (Mupirocin)	6,6 mg/ml	100 % (3/3)	100 % (3/3)
Corticostéroïdes nasaux	Fluticasone	5 % (v/v)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
Gel nasal	Luffa Operculata, Galphimia glauca, histaminum hydrochloricum	5 % (p/v)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
Médicament homéopathique contre l'allergie	Sans objet	10 % (v/v)	100 % (3/3)	100 % (3/3)

Substance potentiellement interférente	Ingrédient actif	Concentration testée	% de détection qualitative du COVID-19 (Nbre détecté/ Nbre testé)	% de détection qualitative du témoin interne (Nbre détecté/ Nbre testé)
Spray nasal ou gouttes nasales	Oxymétazoline	15 % (v/v)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
Pastilles pour la gorge, anesthésiants et analgésiques oraux (Cold Eeze)	Sans objet	2,5 % (p/v)	100 % (3/3)	100 % (3/3)
Médicament antiviral	Oséltamivir	3,3 mg/ml	100 % (3/3)	100 % (3/3)
Mucine de la glande sous-maxillaire bovine, type I-S	Mucine	60 µg/ml	100 % (3/3)	100 % (3/3)
Sang total	Sans objet	2 % (v/v)	100 % (3/3)	100 % (3/3)

RÉFÉRENCES

1. Cui J, Li F, Shi ZL. Nat Rev Microbiol. 2019 Mar;17(3):181-192. doi: 10.1038/s41579-018-0118-9.
2. World Health Organization. Coronavirus. <https://www.who.int/health-topics/coronavirus>
3. Centers for Disease Control and Prevention. Coronavirus. <https://www.cdc.gov/coronavirus/general-information.html>
4. Cheng, Z.J., Shan, J. 2019 Novel coronavirus: where we are and what we know. Infection (2020). <https://doi.org/10.1007/s15010-020-01401-y>
5. Centers for Disease Control and Prevention. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/about/index.html>
6. US Department of Health and Human Services PHS/CDC/NIH. Biosafety in microbiology and biomedical laboratories, Washington DC: US Government Printing Office, 2007.
7. MM3-A2 Molecular diagnostic methods for infectious disease; approved guideline, 2nd ed. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute, 2006.

GLOSSAIRE

	Attention : consulter les documents d'accompagnement*		Téléphone
	Consulter le mode d'emploi*		Télécopieur
	Sur ordonnance uniquement		Pour dispositifs médicaux de diagnostic in vitro*
	Contient suffisamment de réactifs pour <n> tests*		Numéro de catalogue*
	Limites de température*		Révision
	Fabricant*		Code du lot*
	Utiliser avant*		Direct Reaction Mix
	Ne pas réutiliser*		Contenu de la trousse
	Conserver à l'abri du soleil*		

* ISO 15223-1

Le glossaire des symboles est fourni sous forme électronique sur le site www.DiaSorin.com.

Les marqueurs Black Hole Quencher, CAL Fluor et Quasar sont des marques de commerce de Biosearch Technologies, Inc. Les produits de DiaSorin intégrant la technologie des marqueurs Black Hole Quencher, CAL Fluor et Quasar font l'objet d'une licence aux termes d'un accord avec Biosearch Technologies, Inc., et ces produits sont vendus exclusivement dans un but clinique, diagnostique ou de recherche et développement.

IFUK.CF.MOL4150
Rev.02
Date de rédaction: 18 mai 2022



DiaSorin Molecular LLC
11331 Valley View Street
Cypress, California 90630
U.S.A.

Consulter notre site Internet à l'adresse www.DiaSorin.com