

# Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B

Direct

REF MOL4250

Rev. 01

(Français)



Un test de RT-PCR en temps réel conçu pour la détection qualitative et la différenciation *in vitro* de l'ARN viral de SRAS-CoV-2, de la grippe A et de la grippe B.

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

## APPLICATION

Le test de RT-PCR en temps réel Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct de DiaSorin Molecular est conçu pour fonctionner sur l'appareil LIAISON® MDX pour la détection qualitative *in vitro* et la différenciation de l'acide nucléique du coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2 (SRAS-CoV-2), du virus de la grippe A (Influenza A) et du virus de la grippe B (Influenza B) dans des prélèvements par frottis nasopharyngé (NPS) et par frottis nasal (NS) de patients humains ayant des signes et des symptômes d'infection des voies respiratoires, en association avec des facteurs de risque cliniques et épidémiologiques.

Le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct est conçu pour être utilisé comme aide au diagnostic différentiel d'une infection au SRAS-CoV-2, au virus de la grippe A ou au virus de la grippe B.

Un résultat négatif n'élimine pas l'existence d'une infection par le SRAS-CoV-2, un virus de la grippe A ou un virus de la grippe B et ne doit pas constituer l'unique base pour les décisions sur la prise en charge du patient. Un résultat négatif doit être jumelé aux observations cliniques, aux antécédents du patient et aux données épidémiologiques.

Si une infection par un nouveau virus Influenza A est suspectée à partir des critères actuels de définition cliniques et épidémiologiques recommandés par les autorités de santé publique, des échantillons doivent être recueillis avec les précautions appropriées pour le contrôle de l'infection par de nouveaux virus Influenza virulents et expédiés à un laboratoire de santé publique local ou national pour y être analysés. Aucune culture virale ne doit être tentée dans ces cas sauf si un laboratoire de biosécurité de niveau 3+ (BSL 3+) est disponible pour recevoir et mettre en culture les échantillons.

Le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct est conçu pour être utilisé par le personnel de laboratoire compétent ayant reçu des directives et une formation spécifiques sur les techniques de PCR en temps réel et les procédures diagnostiques *in vitro*.

## RÉSUMÉ EXPLICATIF

Le SRAS-CoV-2 (aussi appelé virus de la COVID-19) est un bêtacoronavirus de la famille des coronavirus, ainsi dénommés du fait des spicules formant une couronne 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<sup>1,2,3</sup>. D'autres coronavirus humains, notamment le SRMO-CoV (le bêtacoronavirus responsable du syndrome respiratoire du Moyen-Orient ou SRMO) et le SRAS-CoV (le bêtacoronavirus 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 2019 ou COVID-19. Le 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 mondialement, si bien que l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a déclaré une pandémie<sup>2,4</sup>. Les patients atteints de COVID-19 ont été atteints d'une maladie respiratoire légère à sévère accompagnée de symptômes de fièvre, de toux et d'essoufflement, et de nombreux patients ont présenté des complications, notamment une pneumonie dans les deux poumons.

La grippe est causée par trois types immunologiques (A, B et C) de virus à ARN appartenant à la famille des *Orthomyxoviridae*. Le virus Influenza A est additionnellement ultérieurement classé par la description de deux protéines virales exprimées sur sa surface, l'hémagglutinine et la neuraminidase. L'hémagglutinine facilite la fixation du virus sur les cellules épithéliales respiratoires, tandis que la neuraminidase a pour rôle de briser ces liaisons avec la cellule hôte pour permettre la libération de nouveaux virions. La grippe saisonnière est habituellement provoquée par des virus contenant l'un des trois principaux sous-types d'hémagglutinine (H1, H2 ou H3) et l'un des deux sous-types de neuraminidase (N1 ou N2). Le virus Influenza B n'est pas classé en sous-types.<sup>6</sup>

La grippe se présente généralement comme une combinaison de signes et de symptômes des voies respiratoires supérieures et inférieures, de fièvre, céphalées, myalgies et sensation de malaise général. La maladie peut prendre des aspects différents, allant de difficultés respiratoires isolées ressemblant au rhume banal à la pneumonie grave nécessitant une hospitalisation. Les personnes à risque plus élevé d'hospitalisation suite à la grippe saisonnière sont, notamment, les enfants de moins de 2 ans, les adultes de plus de 65 ans et les personnes ayant des comorbidités significatives. La grippe peut exacerber des pathologies

médicales sous-jacentes comme l'asthme ou l'insuffisance cardiaque congestive. La durée de la maladie est habituellement de 2 à 5 jours, mais les symptômes peuvent persister pendant une semaine ou plus.<sup>7,8</sup>

## PRINCIPES DE LA PROCÉDURE

Le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct consiste en un système d'amplification par RT-PCR en temps réel qui permet l'amplification directe, la détection et la différenciation de l'ARN du SRAS-CoV-2, de l'ARN du virus de la grippe A humain (Flu A) et de l'ARN du virus de la grippe B humain (Flu B) dans des prélèvements par frottis nasopharyngé (nasopharyngeal swabs, NPS) ou par frottis nasal (nasal swabs, NS) non traités et n'ayant pas subi de procédure d'extraction de l'acide nucléique. Ce système comporte le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct, l'appareil LIAISON® MDX (avec le logiciel LIAISON® MDX Studio), le disque d'amplification Direct Amplification Disc et les accessoires connexes.

Dans le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct, des sondes fluorescentes sont utilisées avec des amorces directes et inverses correspondantes pour amplifier les cibles d'ARN de SRAS-CoV-2, de Flu A, de Flu B et du témoin interne. Pour la détection du virus de la COVID-19, le test cible deux régions différentes et spécifiques du génome du SRAS-CoV-2 : le gène S qui code pour la spicule glycoprotéique et la région ORF1ab qui code pour des protéines non structurales bien conservées et qui est donc moins sujette à la recombinaison. Pour la détection des virus de la grippe, le test cible des régions conservées des virus de la grippe A (gène de la matrice) et des virus de la grippe B (gène de la matrice). Le test donne trois résultats : virus de la COVID-19 (détection de la région ORF1ab et/ou du gène S), virus de la grippe A (détection du gène de la matrice) et virus de la grippe B (détection du gène de la matrice). Un ARN de contrôle interne est utilisé pour détecter un échec et/ou une inhibition de la RT-PCR.

## MATÉRIEL FOURNI

Le kit Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct de DiaSorin Molecular 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 30 minutes suivant la sortie du congélateur.

### 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 & Flu A/B Direct Mélange réactif	MOL4251	REAG	C	RM	Bleu	24	1/24	50 µl

### Description des composants

Composant de la trousse	Contenu																									
Mélange réactionnel Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct Reaction Mix (RM)	ADN polymérase, transcriptase inverse, inhibiteur d'ARNase, tampon et dNTP, matrice d'ARN encapsulé, amorces et sondes fluorescentes marquées spécifiquement pour la détection du virus de la COVID-19, des virus de la grippe A, des virus de la grippe B et de l'ARN du témoin interne.																									
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Cible</th> <th>Canal</th> <th>Excitation</th> <th>Émission</th> <th>Gène ciblé</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Flu A</td> <td>520</td> <td>445-505</td> <td>507-533</td> <td>matrice</td> </tr> <tr> <td>Flu B</td> <td>560</td> <td>505-543</td> <td>547-573</td> <td>matrice</td> </tr> <tr> <td>SRAS-CoV-2</td> <td>610</td> <td>502-596</td> <td>597-623</td> <td>S et ORF1ab</td> </tr> <tr> <td>Témoin interne "RNA IC"</td> <td>690</td> <td>622-658</td> <td>652-708</td> <td>S/O</td> </tr> </tbody> </table>	Cible	Canal	Excitation	Émission	Gène ciblé	Flu A	520	445-505	507-533	matrice	Flu B	560	505-543	547-573	matrice	SRAS-CoV-2	610	502-596	597-623	S et ORF1ab	Témoin interne "RNA IC"	690	622-658	652-708	S/O
	Cible	Canal	Excitation	Émission	Gène ciblé																					
	Flu A	520	445-505	507-533	matrice																					
	Flu B	560	505-543	547-573	matrice																					
SRAS-CoV-2	610	502-596	597-623	S et ORF1ab																						
Témoin interne "RNA IC"	690	622-658	652-708	S/O																						
Carte à code-barres Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct	Paramètres spécifiques du test, numéro de lot, date de péremption.																									

## MATÉRIEL FOURNI SÉPARÉMENT

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

## MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Appareil LIAISON® MDX avec le logiciel LIAISON® MDX Studio version 1.1 ou plus récente.
- Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Positive Control Pack (REF MOL4260).

3. Pipette à volume fixe de 50 µl (VWR Signature™ Fixed Volume Ergonomic High-Performance Pipettor Model VWR FE50 ou équivalent)
4. Cônes de pipettes à filtres, stériles et sans nucléases, à usage unique (des cônes extra-longs de plus de 91 mm sont recommandés pour le pipetage direct à partir des tubes de prélèvement d'origine des frottis nasopharyngés)
5. Congélateur (à dégivrage manuel) entre -10 °C et -30 °C (pour stockage des composants congelés de la trousse et des échantillons).
6. Réfrigérateur entre 2 °C et 8 °C (pour échantillons).
7. Gants à usage unique, non poudrés.

#### **MATÉRIEL RECOMMANDÉ**

1. Universal Transport Media (UTM) à utiliser comme Témoin sans matrice (NTC, No Template Control).

#### **MANIPULATION ET STOCKAGE DES RÉACTIFS**

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

#### **MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS**

1. Consulter le manuel du matériel LIAISON® MDX pour d'autres avertissements, précautions et procédures.
2. L'utilisation du test de RT-PCR en temps réel Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct a été autorisée uniquement pour la détection de l'acide nucléique de SRAS-CoV-2, des virus de la grippe A et des virus de la grippe B et d'aucun autre virus ou agent pathogène.
3. 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.
4. Ne pas pipeter à la bouche.
5. 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.
6. Éliminer les réactifs de la trousse non utilisés ainsi que les échantillons d'origine humaine conformément aux règlements locaux, provinciaux et fédéraux.
7. Traiter tous les échantillons et les disques comme étant potentiellement capables de transmettre des agents infectieux.
8. 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<sup>6, 7</sup>.
9. 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.
10. La préparation d'un test doit être effectuée à température ambiante (entre environ 18 °C et 25 °C).
11. Utilisez des pipettes à volume fixe ou équivalent pour transférer les échantillons et le mélange réactif.
12. Éviter de toucher l'envers du film adhésif qui entrera en contact avec les puits et la surface du disque.
13. Pour éviter des résultats erronés, s'assurer que l'échantillon et le réactif sont ajoutés aux puits appropriés.
14. 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.
15. Démarrer la série dans les 30 minutes après avoir retiré le flacon de mélange réactionnel du congélateur.
16. 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.
17. Les disques peuvent être réutilisés jusqu'à ce que les 8 secteurs aient tous été utilisés. Éliminer les disques utilisés dans un récipient pour déchets biologiques sans détacher l'adhésif qui les recouvre.
18. Après chaque utilisation, ranger le disque Direct Amplification Disc à plat avec le film numéroté sur le dessus.
19. Stocker les réactifs à l'abri de la lumière.
20. 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.
21. 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.
22. La matrice spectrale doit être installée dans chaque appareil LIAISON® MDX et ne doit pas être modifiée, sauf si un code QR (Quick Response) actualisé de l'appareil est fourni par DiaSorin Molecular. La matrice spectrale doit être installée dans chaque appareil LIAISON® MDX et ne doit pas être modifiée, sauf si un code QR (Quick Response) actualisé de 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 DiaSorin Molecular. Les coordonnées sont indiquées à la dernière page du présent document.

23. 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'échantillon acceptables comprennent les frottis nasopharyngés (NPS) et les frottis nasaux (NS) dans 3 ml de milieu de transport universel (UTM) ou de milieu de transport viral universel (UVT) de BD ou d'un milieu équivalent, ESwab™ de Copan (milieu Amies liquide), ou de solution saline (chlorure de sodium à 0,9 % dans de l'eau). Utiliser uniquement les écouvillons autorisés 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.

Les échantillons doivent être transportés sur de la glace et conservés à une température comprise entre 2 °C et 8 °C pendant un maximum de 3 jours après le prélèvement. En cas de délai de plus de 3 jours avant le traitement, conserver les échantillons à une température de -70 °C ou moins, conformément au mode d'emploi du milieu de transport.

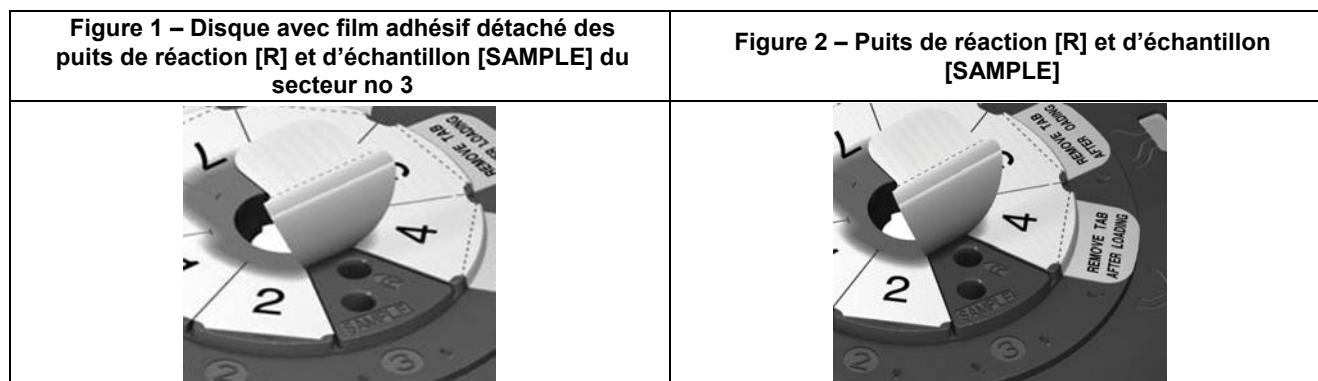
### B. CONFIGURATION DE L'APPAREIL DE PCR EN TEMPS RÉEL

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.

### 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 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 & Flu A/B 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, détacher partiellement le film adhésif pour exposer les puits de la réaction (R) et de l'échantillon (SAMPLE), sans 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. Vérifiez que le mélange réactif 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. Mélanger brièvement au vortex pulsatile. Utiliser la pipette à volume fixe pour transférer 50 µl d'échantillon ou de témoin dans le puits d'échantillon (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.
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 Direct Amplification Disc 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 & Flu A/B Positive Control Pack (MOL4260) peut être utilisée comme témoin externe pour les tests de CQ, pour les formations ou pour l'évaluation des capacités de l'utilisateur. Chaque laboratoire doit définir ses propres plages de contrôle de la qualité 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 & Flu A/B Positive Control Pack (IFUC.CF.MOL4260) pour savoir comment analyser le témoin positif.

**Résultats attendus des témoins**

Type de témoin	COVID-19	Flu A	Flu B	Témoin interne d'ARN (RNA IC)
Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct Positive Control <sup>a</sup>	Déecté	Déecté	Déecté	Sans objet <sup>b</sup>
Témoin sans matrice (NTC)	Non déecté	Non déecté	Non déecté	Valide

<sup>a</sup> Les valeurs habituelles de Ct pour le témoin positif sont comprises entre 24 et 30.

<sup>b</sup> La détection du témoin Simplexa™ RNA Internal Control (RNA IC) n'est pas requise pour que le résultat soit valide.

**RÉSULTATS**

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

1. Pour chaque ID d'acquisition (ID d'échantillon) saisi, le logiciel affiche un résultat (« Detected » [Déecté], « Not Detected » [Non déecté] ou « Invalid » [Non valide]) pour les virus de la COVID-19, Flu A et Flu B.

Résultats	Interprétation
<b>Déecté</b>	Le résultat « Detected » indique la présence des virus COVID-19 et/ou Flu A et/ou Flu B dans l'échantillon du patient.
<b>Non déecté</b>	Le résultat « Not Detected » indique l'absence des virus COVID-19 et/ou Flu A et/ou Flu B dans l'échantillon du patient.
<b>Invalid (Non valide)</b>	Le résultat « Invalid » indique l'incapacité d'affirmer de façon formelle la présence ou l'absence des virus COVID-19 et/ou Flu A et/ou Flu B dans l'échantillon du patient. Ce résultat peut être provoqué par 1) un échec du témoin interne (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.
<b>EC500</b>	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.
<b>EC505</b>	Pas suffisamment d'informations pour déterminer si une amplification était présente. Si le problème persiste, communiquer avec le service technique.
<b>EC515</b>	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.

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

## RÉSULTATS NON VALIDES

En cas de résultat « Invalid » ou de code d'erreur, testez l'échantillon à nouveau avec un nouveau flacon de mélange réactif du même kit ou d'un nouveau kit. Si le problème persiste, communiquer avec le service technique de DiaSorin Molecular.

## LIMITES

1. Pour utilisation en vertu de l'approbation et de l'autorisation de l'arrêté d'urgence 333538 seulement.
2. Pour diagnostic *in vitro* uniquement.
3. Pour usage professionnel et sur ordonnance uniquement.
4. Les résultats de ce test doivent être utilisés en combinaison avec le tableau clinique, les données épidémiologiques et les autres analyses de laboratoire à la disposition du clinicien évaluant le patient.
5. La détection de l'acide nucléique viral dépend des bonnes conditions de recueil, transport, manipulation, conservation et préparation de l'échantillon. Le non-respect des procédures appropriées au cours de l'une ou l'autre de ces étapes peut entraîner des résultats inexacts.
6. La prévalence des infections virales peut avoir un effet sur la valeur prédictive du test.
7. Un résultat négatif n'élimine pas l'existence d'une infection par le COVID-19, le Flu A ou le Flu B et ne doit pas constituer l'unique base pour le traitement ou les autres décisions de prise en charge du patient.
8. 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.
9. 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.
10. Un résultat positif à ce test n'exclut pas la présence d'infections provoquées par d'autres agents pathogènes viraux ou bactériens. Les acides nucléiques viraux peuvent persister *in vivo* indépendamment de la viabilité du virus. La détection des analytes cibles ne signifie pas que les virus correspondants soient infectieux ou qu'ils soient responsables des symptômes cliniques.
11. Ce test est un test qualitatif et ne fournit pas de valeurs quantitatives pour les organismes détectés.
12. Les performances de ce test n'ont pas été établies pour le dépistage du sang ou des produits sanguins infectés à la recherche des virus COVID-19, Influenza A ou Influenza B.
13. Les performances de ce test n'ont été évaluées que pour une utilisation avec du matériel provenant d'échantillons humains.
14. Les performances de ce test n'ont pas été déterminées chez des sujets immunovulnérables.
15. Les performances de ce test n'ont pas été établies chez des patients ne présentant pas de symptômes d'infection virale des voies respiratoires.
16. Les performances de ce test pour la surveillance du traitement de la COVID-19, de la grippe A ou de la grippe B ou une infection par ces virus n'ont pas été établies.
17. Les performances de ce test n'ont pas été établies pour les sujets ayant reçu une vaccination antigrippale (anti-influenza) par voie nasale.
18. Les performances de ce test n'ont pas été établies pour effectuer des tests de dépistage des donneurs.
19. Les performances de ce test n'ont pas été évaluées avec des types d'échantillons autres que des frottis nasopharyngés et nasaux.
20. Les performances de ce test n'ont pas été établies chez les sujets utilisant des pastilles pour la gorge ou des produits contenant du menthol.
21. Les performances de cet appareil n'ont pas été évaluées au sein d'une population vaccinée contre la COVID-19.
22. Les performances de l'appareil n'ont pas été évaluées sur des échantillons de personnes ayant contracté une infection confirmée à un variant émergent de SRAS-CoV-2 préoccupant pour la santé publique.
23. L'utilisation de 1 ml de milieu de transport peut entraîner un taux accru de défaillance du témoin interne (IC) pour certains échantillons de patient. Cette situation peut être causée par la présence d'inhibiteurs en concentration accrue lorsque le frottis nasopharyngé ou nasal d'un patient est placé dans un volume de 1 ml de milieu de transport comparativement à un volume de 3 ml de milieu de transport. Tout échantillon de patient prélevé dans un volume de 1 ml peut être dilué dans un volume final de 3 ml (dans un milieu de transport équivalent) pour diminuer la quantité d'inhibiteurs présents.
24. Les informations du code-barres du kit ne peuvent être transmises au logiciel LIAISON® MDX Studio que par l'intermédiaire d'un scanner approprié. 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**

Les performances du test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct ont été évaluées à l'aide d'échantillons rétrospectifs présélectionnés positifs et négatifs de frottis nasopharyngés (NPS) et de frottis nasaux (NS) provenant de patients humains présentant des signes et des symptômes d'infection des voies respiratoires. Les échantillons ont été prélevés dans sept (7) centres externes : six (6) étaient situés aux États-Unis et un (1) était situé à l'extérieur des États-Unis. Les centres de prélèvement américains étaient situés dans six (6) régions géographiques différentes. Les échantillons ont été prélevés entre le 24 mars 2015 et le 24 février 2021. Le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct et le test comparateur de détection des virus de la grippe ont été réalisés du 14 au 18 mai 2021 au centre interne de DiaSorin Molecular, LLC, à Cypress en Californie. Le test comparateur de détection du SRAS-CoV-2 a été réalisé dans un centre externe du 26 octobre 2020 au 24 avril 2021.

Les tableaux 1 à 3 ci-dessous présentent la comparaison des résultats obtenus à l'aide du test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct et des tests comparateurs. Le pourcentage de concordance positive (PCP) et le pourcentage de concordance négative (PCN) sont fondés sur un nombre total de cent-quatre-vingt-six (186) échantillons enregistrés.

**Tableau 1. Comparaison entre le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct et un test diagnostique par RT-PCR en temps réel – cible : le SRAS-CoV-2**

Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct (MOL4250)	Appareil de RT-PCR du SRAS-CoV-2 en temps réel de comparaison approuvé par la FDA pour une utilisation d'urgence		Total
	Détecté	Non détecté	
Détecté	55	1	56
Non détecté	2	128	130
Total	57	129	186
	PCP : 96,5 % (55/57) IC à 95 % : de 88,1 % à 99,0 %		PCN : 99,2 % (128/129) IC à 95 % : de 95,7 % à 99,9 %

**Tableau 2. Comparaison entre le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct et le test Simplexa™ Flu A/B & RSV Direct Gen II – cible : grippe A**

Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct (MOL4250)	TAAN de comparaison autorisé par la FDA		Total
	Détecté	Non détecté	
Détecté	49	2	51
Non détecté	2	133	135
Total	51	135	186
	PCP : 96,1 % (49/51) IC à 95 % : de 86,8 % à 98,9 %		PCN : 98,5 % (133/135) IC à 95 % : de 94,8 % à 99,6 %

**Tableau 3. Comparaison entre le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct et le test Simplexa™ Flu A/B & RSV Direct Gen II – cible : grippe B**

Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct (MOL4250)	TAAN de comparaison autorisé par la FDA		Total
	Détecté	Non détecté	
Détecté	30	0	30
Non détecté	0	156	156
Total	30	156	186
	PCP : 100,0 % (30/30) IC à 95 % : de 88,6 % à 100,0 %		PCN : 100,0 % (156/156) IC à 95 % : de 97,6 % à 100,0 %

## SENSIBILITÉ ANALYTIQUE / LIMITE DE DÉTECTION

La limite de détection (LoD) du test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct dans des frottis nasopharyngés (NPS) a été établie comme étant la plus faible concentration détectable de stocks viraux dosés inactivés quantifiés (copies/ml) à laquelle au moins 95 % de tous les réplicats donnaient un résultat positif. Deux (2) souches de la grippe A, deux (2) souches de la grippe B et une souche du SRAS-CoV-2 ont été testées. Initialement, la LoD provisoire a été déterminée par dilution en série des stocks viraux dans la matrice NPS négative testés sur cinq (5) réplicats pendant la conception et la mise au point du test. La concentration la plus basse à laquelle tous les réplicats étaient positifs a été considérée comme étant la LoD provisoire. La LoD a ensuite été confirmée par l'analyse de vingt (20) réplicats à une concentration équivalente à la limite de détection provisoire. La LoD finale a été confirmée comme étant la concentration la plus faible permettant une détection positive avec un taux minimum de positivité de 95 %.

Les résultats de la LoD sont présentés dans le tableau 4 ci-dessous.

**Tableau 4. Limite de détection du test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct**

Souche virale	LOD (copies/ml)
Influenza A/Hong Kong/8/68	1000
Influenza A/Michigan/45/2015	500
Influenza B/Phuket/3073/2013	750
Influenza B/Malaysia/2506/2004	500
SRAS-CoV-2 (USA-WA1/2020)	500

## RÉACTIVITÉ ANALYTIQUE/RÉACTIVITÉ CROISÉE

### Réactivité analytique/Inclusivité – COVID-19

Une analyse d'inclusivité *in silico* des amorces et des sondes Simplexa™ pour le virus de la COVID-19 dans le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct a été réalisée. Tous les ensembles d'amorces et de sondes destinés à la détection de l'ORF1ab et du gène S ont été testés par rapport aux séquences complètes disponibles du génome du SRAS-CoV-2. Cette analyse a démontré que les régions reconnues par les amorces et les sondes conçues ont une homologie très élevée (> 98 %) avec l'ensemble des séquences du SRAS-CoV-2 qui se trouvent dans les bases de données de la Global Initiative on Sharing Avian Influenza Data (GISAID). La faible fréquence ( $\leq 0,1$  %) des variants dans la région des amorces et de la sonde décelée lors de la surveillance clinique des souches laisse croire que ces variants sont probablement le résultat d'erreurs de séquençage ou de mutations aléatoires uniques présentes dans quelques échantillons cliniques et qu'ils ne sont par conséquent pas présents à grande échelle au sein de la population analysée. Étant donné que le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct est conçu pour détecter le SRAS-CoV-2 de façon redondante à la fois par le gène cible ORF1ab et par le gène cible S, le risque de non-détection de SRAS-CoV-2, lorsqu'il est présent dans un échantillon de patient, est faible. Les résultats sont présentés dans le tableau 5.

**Tableau 5. Analyse d'inclusivité in silico du test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct**

Base de données	Identité avec la structure de l'ORF1ab	Identité avec la structure du gène S
GISAID	703754 / 709343 (99,2 %)	720766 / 730972 (98,6 %)

### Réactivité analytique – Grippe

La réactivité analytique du test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct a été évaluée au moyen d'échantillons de frottis nasopharyngés dans du milieu UTM. Au total, 63 souches de grippe A et 21 souches de grippe B ont été évaluées. Une matrice NPS négative a été enrichie avec une solution de particules virales quantifiées aux concentrations indiquées ci-dessous et testée en trois réplicats. Les résultats sont présentés dans les tableaux 6 et 7.

De plus, toutes les souches de grippe des panels des CDC des trois (3) dernières années ont été examinées et testées (aux concentrations indiquées dans les tableaux 6 et 7). Les panels des CDC ont été détectés à 100 % par le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct; les résultats sont détaillés dans les tableaux 8 - 10.



**Tableau 6. Résultats de la réactivité analytique du test Simplexa™ COVID-19 & FLU A/B Direct – grippe A**

Organisme	Concentration testée*	% Détecté
A/Anhui/1/2013	Dilution 1:100 000	100,0 % (3/3)
A/black-legged kittiwake/Quebec/02838-1/2009	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Brisbane/02/2018	100 EID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Brisbane/10/07	100 U/ml	100,0 % (3/3)
A/Brisbane/59/07	100 U/ml	100,0 % (3/3)
A/American green-winged teal/Mississippi/300/2010	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/California/02/2014	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/California/4/2009	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/California/7/2009	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/chicken/Germany/N/49	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/chicken/Vietnam/NCVD-016/2008(H5N1)-PR8-IDCDC-RG12	Dilution 1:100 000	100,0 % (3/3)
A/Christ Church/16/2010	1 000 EID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/duck/Chabarovsk/1610/1972	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/duck/Czechoslovakia/1956	5000 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/duck/Wisconsin/480/1979	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Egypt/N03072/2010(H5N1)-PR8-IDCDC-RG29	Dilution 1:100 000	100,0 % (3/3)
A/Guangdong-Maonan/1536/2019	100 EID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Hawaii/15/2001	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Hong Kong/2671/2019	100 EID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Hong Kong/4801/2014	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Hong Kong/33982/2009(H9N2)-PR8-IDCDC_RG26	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Hubei/1/2010(H5N1)-PR8-IDCDC-RG30	Dilution 1:100 000	100,0 % (3/3)
A/India/NIV/2006(H5N1)-PR8-IBCDC-RG7	Dilution 1:100 000	100,0 % (3/3)
A/Indiana/08/2011	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Kansas/14/2017	100 EID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/mallard/Netherlands/12/2000(H7N7)/PR8-IBCDC-1	Dilution 1:100 000	100,0 % (3/3)
A/mallard/Illinois/10OS4334/2010	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/mallard/Wisconsin/4218/2009	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/mallard/Wisconsin/4230/2009	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Massachusetts/15/2013	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Mexico/4108/2009	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Minnesota/11/2010	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Minnesota/19/2011	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)

A/New Caledonia/20/99	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/New York/18/2009	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/New York/55/2004	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/NY/02/09	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Ohio/02/2012	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Perth/16/2009	100 EID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/pheasant/New Jersey/1355/1998(H5N2)-PR8-IBCDC-4	Dilution 1:100 000	100,0 % (3/3)
A/Port Chalmers/1/1973	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/PR/8/34	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/quail/Italy/1117/1965	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/red knot/Delaware Bay/240/1994	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/red knot/Delaware/541/1988	1000 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/redhead/Alberta/192/2002	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Rhode Island/01/2010	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Santiago/7981/2006	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/shorebird/Delaware Bay/211/1994	1000 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/shorebird/Delaware/172/2006	1000 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Solomon Island/3/2006	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Swine/1976/31	100 U/ml	100,0 % (3/3)
A/Swine/Iowa/15/30	100 U/ml	100,0 % (3/3)
A/swine/Ohio/09SW1477/2009	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/swine/Ohio/09SW83E/2009	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Switzerland/9715293/2013	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Taiwan/42/06	100 U/ml	100,0 % (3/3)
A/turkey/Massachusetts/3740/1965	2000 CEID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/turkey/Virginia/4529/2002 (H7N2)xPR8-IBCDC-5	Dilution 1:100 000	100,0 % (3/3)
A/Texas/50/2012	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/Wisconsin/67/05	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)
A/WS/33	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100,0 % (3/3)

\*TCID<sub>50</sub>/ml = dose infectieuse sur culture tissulaire

CEID<sub>50</sub>/ml = dose infectieuse pour l'embryon de poulet

EID<sub>50</sub>/ml = dose infectieuse sur œufs

**Tableau 7. Résultats de la réactivité analytique du test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct – grippe B**

Organisme	Concentration testée*	% Détection
B/Brisbane/33/2008	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Brisbane/60/2008	100 U/ml	100 % (3/3)
B/Christchurch/33/2004	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Colorado/06/2017	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Florida/02/2006	100 U/ml	100 % (3/3)
B/Florida/04/2006	100 U/ml	100 % (3/3)
B/Florida/07/04	100 U/ml	100 % (3/3)
B/Great Lakes/1739/54	100 U/ml	100 % (3/3)
B/Guangdong-Liwan/1133/2014	1000 CEID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Maryland/1/59	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Massachusetts/02/2012	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Michigan/09/2011	100 EID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Nevada/03/2011	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/New Hampshire/01/2016	100 EID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Panama/45/90	100 U/ml	100 % (3/3)
B/Texas/02/2013	100 TCID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Texas/81/2016	100 EID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Utah/09/2014	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Victoria/304/2006	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Washington/02/2019	100 EID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)
B/Wisconsin/01/2010	100 CEID <sub>50</sub> /ml	100 % (3/3)

\*TCID<sub>50</sub>/ml = dose infectieuse sur culture tissulaire

CEID<sub>50</sub>/ml = dose infectieuse pour l'embryon de poulet

EID<sub>50</sub>/ml = dose infectieuse sur œufs

**Tableau 8. Souches de la grippe A et de la grippe B des panels des CDC de 2018-2019 testées à l'aide du test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct**

Virus	Sous-type	Organisme
Flu A	A (H3N2)	A/Perth/16/2009
		A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016*
	A (H1N1) pdm09	A/California/07/2009
		A/Michigan/45/2015*
Flu B	B (lignée Victoria)	B/Brisbane/60/2008
		B/Colorado/06/2017*
	B (lignée Yamagata)	B/Wisconsin/01/2010
		B/Phuket/3073/2013*

\*Souches recommandées par l'OMS pour le vaccin

**Tableau 9. Souches de la grippe A et de la grippe B des panels des CDC de 2019-2020 testées à l'aide du test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct**

Virus	Sous-type	Organisme
Flu A	A (H3N2)	A/Perth/16/2009
		A/Kansas/14/2017*
	A (H1N1) pdm09	A/Christ Church/16/2010
		A/Brisbane/02/2018*
Flu B	B (lignée Victoria)	B/Michigan/09/2011
		B/Colorado/06/2017*
	B (lignée Yamagata)	B/New Hampshire/01/2016
		B/Phuket/3073/2013*

\*Souches recommandées par l'OMS pour le vaccin

**Tableau 10. Souches de la grippe A et de la grippe B des panels des CDC de 2020-2021 testées à l'aide du test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct**

Virus	Sous-type	Organisme
Flu A	A (H3N2)	A/Perth/16/2009
		A/Hong Kong/2671/2019*
	A (H1N1) pdm09	A/Christ Church/16/2010
		A/Guangdong-Maonan/1536/2019*
Flu B	B (lignée Victoria)	B/Michigan/09/2011
		B/Washington/02/2019*
	B (lignée Yamagata)	B/Texas/81/2016
		B/Phuket/3073/2013*

\*Souches recommandées par l'OMS pour le vaccin

### Réactivité croisée (spécificité analytique)

La réactivité croisée du test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct a été évaluée 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 l'ajout d'isolats mis en culture, d'organismes inactivés ou d'acides nucléiques purifiés (génomme entier) à une matrice négative (NPS) afin de déterminer la réactivité croisée sur la base de trois réplicats. L'inhibiteur RNasin® a été ajouté à la matrice NPS pour les échantillons contenant de l'ARN extrait. Les résultats de l'analyse de réactivité croisée sont résumés dans le tableau 11. Quatre (4) autres organismes n'étaient pas disponibles pour l'analyse. L'analyse *in silico* par BLAST a montré que *Bacillus anthracis*, *Chlamydomypha psittaci*, le virus Influenza C et *Pneumocystis jirovecii* ne devraient pas être détectés en raison d'un pourcentage d'homologie totale d'au plus 78 % avec chacune des amorces et sonde cibles.

**Tableau 11. Résultats de réactivité croisée pour le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct**

Organisme	Concentration testée <sup>1</sup>	COVID-19	Flu A	Flu B
Adénovirus type 1	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Adénovirus type 7A	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Bordetella pertussis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)

<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFI/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Coxiella burnetii</i>	1 x 10 <sup>6</sup> copies de génomme/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Cytomégalovirus	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Entérovirus type 68	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Entérovirus type 71	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Virus d'Epstein Barr	1 x 10 <sup>5</sup> copies/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Haemophilus influenzae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Coronavirus humain 229E*	1 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Coronavirus humain NL63*	1 x 10 <sup>4</sup> U/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Coronavirus humain OC43	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Métapneumovirus humain 9*	1 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Lactobacillus plantarum</i> ,17-5	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Legionella longbeachae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Legionella pneumophila</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Leptospira interrogans</i>	1 x 10 <sup>6</sup> copies/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Rougeole	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Coronavirus du SRMO	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Oreillons	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (ADN génomique)	1 x 10 <sup>6</sup> copies/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UCC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Neisseria elongata</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Virus parainfluenza type 1	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)

Virus parainfluenza type 2	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Virus parainfluenza type 3	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Virus parainfluenza type 4	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Paréchévirus type 3	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Rhinovirus 1A*	1 x 10 <sup>4</sup> U/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
VRS/A	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
VRS/B	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
<i>Streptococcus salivarius</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
ARN de coronavirus humain HKU1	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
ADN génomique humain (leucocytes)	1 x 10 <sup>6</sup> cellules/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
Échantillons de lavage nasal humain regroupés	Dilution 1:1	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)
ARN de synthèse pour SRAS-CoV-1	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)	0,0 % (0/3)

\* Une concentration plus faible a été testée, car il n'a pas été possible d'obtenir un stock de titre plus élevé; l'analyse BLAST a montré que l'homologie totale avec les amorces et sondes cibles était d'au plus 67 %.

<sup>1</sup>UCC/ml = unités de changement de couleur par millilitre

UFC/ml = unités formant des colonies par millilitre

UFI/ml = unités infectieuses par millilitre

U/ml = unités par millilitre

TCID<sub>50</sub>/ml = dose infectieuse sur culture tissulaire par millilitre

## INHIBITION PAR D'AUTRES MICRO-ORGANISMES

Le test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct a été évalué par l'analyse de sa capacité à détecter le SRAS-CoV-2 et les virus de la grippe A et de la grippe B en présence d'autres micro-organismes potentiellement inhibiteurs. Pour les organismes dont la concentration n'a pas été établie en UFC/ml ou en TCID<sub>50</sub>/ml, d'autres unités acceptées dans le secteur et indiquées dans le tableau ont été utilisées. L'inhibiteur RNasin® a été ajouté à la matrice UTM pour les échantillons contenant de l'ARN extrait. Le panel de quarante-sept (47) organismes potentiellement inhibiteurs ont été ajoutés individuellement dans un mélange ayant une faible concentration de virus Influenza A (Influenza A/Hong Kong/8/68), Influenza B (Influenza B/Malaysia/2506/2004) et COVID-19 (2019-nCoV/USA-WA1/2020). Les échantillons ont été testés en trois réplicats pour rechercher une inhibition. Aucune inhibition par d'autres organismes n'a été observée pour les virus de la COVID-19, de la grippe A ou de la grippe B aux concentrations indiquées dans le tableau 12.

**Tableau 12. Test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct – résultats d'inhibition microbienne**

Organisme	Concentration testée <sup>1</sup>	% Détection		
		COVID-19	Flu A	Flu B
Adénovirus type 1	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	100 %	100 %	100 %
Adénovirus type 7A	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	100 %	100 %	100 %
<i>Bordetella pertussis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Candida albicans</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFI/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Coxiella burnetii</i>	1 x 10 <sup>6</sup> copies de génome/ml	100 %	100 %	100 %
Cytomégalovirus	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	100 %	100 %	100 %
Entérovirus type 68	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	100 %	100 %	100 %
Entérovirus type 71	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	100 %	100 %	100 %
Virus d'Epstein Barr	1 x 10 <sup>5</sup> copies/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	95 %	100 %
<i>Haemophilus influenzae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
Coronavirus humain 229E*	1 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	100 %	100 %	100 %
Coronavirus humain NL63*	1 x 10 <sup>4</sup> U/ml	100 %	100 %	100 %
Coronavirus humain OC43	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	100 %	100 %	100 %
Métapneumovirus humain 9*	1 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	100 %	100 %	100 %
<i>Lactobacillus plantarum</i> ,17-5	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Legionella longbeachae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Legionella pneumophila</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Leptospira interrogans</i>	1 x 10 <sup>6</sup> copies/ml	100 %	100 %	100 %
Rougeole	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	100 %	100 %	100 %
Coronavirus du SRMO	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	100 %	100 %	100 %
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
Oreillons	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> (ADN génomique)	1 x 10 <sup>6</sup> copies/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UCC/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Neisseria elongata</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Neisseria meningitidis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %

Virus parainfluenza type 1	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	100 %	100 %	100 %
Virus parainfluenza type 2	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	100 %	100 %	100 %
Virus parainfluenza type 3	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	100 %	100 %	100 %
Virus parainfluenza type 4	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	100 %	100 %	100 %
Paréchévirus type 3	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
Rhinovirus 1A*	1 x 10 <sup>4</sup> U/ml	95 %	100 %	100 %
VRS/A	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	100 %	100 %	100 %
VRS/B	1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml	100 %	100 %	100 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
<i>Streptococcus salivarius</i>	1 x 10 <sup>6</sup> UFC/ml	100 %	100 %	100 %
ARN de coronavirus humain HKU1	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	100 %	100 %	100 %
ADN génomique humain (leucocytes)	1 x 10 <sup>6</sup> cellules/ml	100 %	100 %	100 %
Échantillons de lavage nasal humain regroupés	Dilution 1:1	100 %	100 %	100 %
ARN de synthèse pour SRAS-CoV-1	1 x 10 <sup>5</sup> U/ml	100 %	100 %	100 %

\*Une concentration plus faible a été testée, car il n'a pas été possible d'obtenir un stock de titre plus élevé.

<sup>1</sup>UCC/ml = unités de changement de couleur par millilitre

UFC/ml = unités formant des colonies par millilitre

UFI/ml = unités infectieuses par millilitre

U/ml = unités par millilitre

TCID<sub>50</sub>/ml = dose infectieuse sur culture tissulaire par millilitre



### SUBSTANCES INTERFÉRENTES

La capacité de substances potentiellement interférentes provenant d'échantillons respiratoires à produire des résultats faussement négatifs a été testée. Les échantillons ont été préparés par l'ajout de chaque substance potentiellement interférente dans un échantillon de départ consistant en un regroupement d'échantillons de frottis nasopharyngé négatifs et de particules de virus de la COVID-19 inactivées (souche 2019-nCoV/USA-WA1/2020), d'Influenza A/Michigan/45/2015 et d'Influenza B/Malaysia/2506/2004. Les échantillons testés contenaient chacun de ces trois virus à une concentration de 1500 copies/ml (soit 3 fois la LoD). Les tests ont été réalisés en trois réplicats par substance. Les résultats sont présentés dans le tableau 13. Aucune des substances testées n'a causé d'interférence dans la détection des virus de la COVID-19, de la grippe A ou de la grippe B aux concentrations testées.

**Tableau 13. Test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct – résultats de l'analyse de substances potentiellement interférentes**

Substance potentiellement interférente	Ingrédient actif	Concentration testée	COVID-19	Flu A	Flu B
Afrin (spray nasal)	Oxymétazoline	15 % (v/v)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)
Agent antibactérien systémique	Tobramycine	4 µg/ml	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)
Antibiotique, pommade nasale	Bactroban (Mupirocin)	6,6 mg/ml	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)
Sang total	S/O	2 % (v/v)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)
Mucine de la glande sous-maxillaire bovine, type I-S	Protéine mucine purifiée	60 µg/ml	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)
Cold Eeze (pastilles pour la gorge; anesthésiant et analgésique oral)	S/O	2,5 % (p/v)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)
Corticostéroïde nasal (Beconase AQ)	Béclométasone	5 % (v/v)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)
Corticostéroïde nasal (Flonase)	Fluticasone	5 % (v/v)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)
Antiviral, Relenza	Zanamivir	3,3 mg/ml	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)
Antiviral, Tamiflu	Oséltamivir	1 µM	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)
Gel nasal, Zicam	<i>Luffa Operculata</i> , <i>galphimia glauca</i> , histaminum hydrochloricum	5 % (p/v)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)
Vaporisateur nasal Zicam (produit homéopathique pour soulager les allergies)	S/O	10 % (v/v)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)	100,0 % (3/3)

### INTERFÉRENCE COMPÉTITIVE

Une analyse de l'interférence compétitive a été réalisée pour évaluer la capacité du test à détecter une faible dose d'un (1) analyte cible en présence d'une dose élevée d'un autre analyte cible. Les échantillons pour les tests humides ont été préparés par l'ajout à une matrice négative (NPS dans l'UTM) d'un (1) analyte cible à faible concentration (4 fois la LoD) en présence d'une dose élevée (1000 fois la LoD) d'un (1) des deux (2) autres analytes cibles. Toutes les combinaisons de cibles possibles ont été testées. Chaque échantillon préparé a été testé en trois réplicats.

Les résultats sont présentés dans le tableau 14. Aucune des combinaisons testées n'a provoqué d'interférence compétitive sur la détection d'une faible concentration des virus de la COVID-19, de la grippe A ou de la grippe B en présence d'une concentration élevée d'un autre analyte cible du test.

**Tableau 14. Test Simplexa™ COVID-19 & Flu A/B Direct – résultats de l'analyse de l'interférence compétitive**

Cible à concentration basse	Cible à concentration élevée	Détection de la cible basse	Détection de la cible élevée
Flu A	S/O	100 % (2/2)	S/O
	Flu B	100 % (3/3)	100 % (3/3)
	COVID-19	100 % (3/3)	100 % (3/3)
Flu B	S/O	100 % (2/2)	S/O
	Flu A	100 % (3/3)	100 % (3/3)
	COVID-19	100 % (3/3)	100 % (3/3)
COVID-19	S/O	100 % (2/2)	S/O
	Flu A	100 % (3/3)	100 % (3/3)
	Flu B	100 % (3/3)	100 % (3/3)

S/O = Sans objet














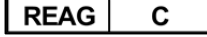



### CONTAMINATION PAR TRANSFERT

La contamination par transfert de l'amplification lors de l'utilisation des tests Simplexa™ a été évaluée dans d'autres tests utilisant les mêmes matrices d'échantillons, le même processus et le même type d'échantillon ; aucune contamination par transfert n'est donc anticipée. L'étude a été conçue de façon à placer en alternance un échantillon fortement positif et un échantillon négatif sur chaque disque. Aucun effet de contamination par transfert n'a été observé.

### 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. <http://www.cdc.gov/flu/about/viruses/types.htm>
7. <http://www.cdc.gov/flu/weekly/pastreports.htm>
8. <http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/cda-ozflu-no44-10.htm>
9. US Department of Health and Human Services PHS/CDC/NIH. Biosafety in microbiology and biomedical laboratories, Washington DC: US Government Printing Office, 2007
10. 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
	Risque biologique*		Pour dispositifs médicaux de diagnostic <i>in vitro</i> *
	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

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.MOL4250  
Rev. 01  
Date de rédaction : 3 février 2022

Consulter notre site Internet à l'adresse [www.DiaSorin.com](http://www.DiaSorin.com)



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