

Real Time PCR Detection Kit

Respiratory Virus Extended Mix for BD MAX™ System
Notice d'utilisation

CE IVD
2797

Cette notice d'utilisation s'applique aux références suivantes :

PRODUIT	RÉFÉRENCE
VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	444221

Tableau A1. Référence du produit à utiliser avec BD MAX™ System.

EN For download IFUS from other languages, please enter in **certest.es/viasure/labeling**. Once you be there, please following the instructions for access to the language that you need. If you need additional information, please contact: viasure@certest.es.

BG За да изтеглите IFUS на други езици, моля, отидете на **certest.es/viasure/labeling**. След това следвайте инструкциите, за да получите достъп до необходимия ви език. Ако имате нужда от допълнителна информация, моля, свържете се с: viasure@certest.es.

CS Chcete-li si stáhnout IFUS v jiných jazycích, přejděte na stránku **certest.es/viasure/labeling**. Jakmile se tam dostanete, postupujte podle pokynů pro přístup k požadovanému jazyku. Pokud potřebujete další informace, kontaktujte prosím: viasure@certest.es.

DA Hvis du vil downloade IFUS på andre sprog, kan du gå til **certest.es/viasure/labeling**. Når du er der, skal du følge instruktionerne for at få adgang til det sprog, du har brug for. Hvis du har brug for yderligere oplysninger, kan du kontakte: viasure@certest.es.

DE Um den IFUS in anderen Sprachen herunterzuladen, gehen Sie bitte zu **certest.es/viasure/labeling**. Wenn Sie dort sind, folgen Sie den Anweisungen, um auf die gewünschte Sprache zuzugreifen. Wenn Sie weitere Informationen benötigen, wenden Sie sich an: viasure@certest.es.

EL Για να κατεβάσετε το IFUS σε άλλες γλώσσες, μεταβείτε στη διεύθυνση **certest.es/viasure/labeling**. Μόλις φτάσετε εκεί, ακολουθήστε τις οδηγίες για να αποκτήσετε πρόσβαση στη γλώσσα που χρειάζεστε. Εάν χρειάζεστε πρόσθετες πληροφορίες, επικοινωνήστε με τη διεύθυνση: viasure@certest.es.

ES Para descargar las IFUS en otros idiomas, por favor, entre en **certest.es/viasure/labeling**. Una vez esté allí, siga las instrucciones para acceder al idioma que necesite. Si necesita información adicional, contacte: viasure@certest.es.

FR Pour télécharger l'IFUS dans d'autres langues, veuillez vous rendre sur **certest.es/viasure/labeling**. Une fois sur place, suivez les instructions pour accéder à la langue dont vous avez besoin. Si vous avez besoin d'informations supplémentaires, contactez: viasure@certest.es.

HR Za preuzimanje IFUS-a s drugih jezika unesite **certest.es/viasure/labeling**. Kada ste tamo, slijedite upute za pristup jeziku koji vam je potreban. Ako trebате dodatne informacije, obratite se na: viasure@certest.es.

HU Az IFUS más nyelveken történő letöltéséhez kérjük, látogasson el a **certest.es/viasure/labeling** weboldalra. Ha ott van, kövesse az utasításokat a kívánt nyelv eléréséhez. Ha további információra van szüksége, kérjük, forduljon a következő címre: viasure@certest.es.

IT Per scaricare l'IFUS in altre lingue, vai su **certest.es/viasure/labeling**. Una volta che sei lì, segui le istruzioni per accedere alla lingua di cui hai bisogno. Se hai bisogno di ulteriori informazioni, contatta: viasure@certest.es.

LT Norėdami atsisiųsti IFUS kitomis kalbomis, eikite į **certest.es/viasure/labeling**. Ten atlikite nurodymus, kad pasiektumėte reikiamą kalbą. Jei reikia papildomos informacijos, kreipkitės adresu: viasure@certest.es.

LV Lai lejupielādētu IFUS citās valodās, lūdzu, apmeklējiet **certest.es/viasure/labeling**. Pēc tam izpildiet norādījumus, lai piekļūtu vajadzīgajai valodai. Ja nepieciešama papildu informācija, lūdzu, sazinieties ar: viasure@certest.es.

NB For å laste ned IFUS fra andre språk, gå inn på **certest.es/viasure/labeling**. Når du er der, kan du følge instruksjonene for å få tilgang til det språket du trenger. Hvis du trenger ytterligere informasjon, kan du kontakte: viasure@certest.es.

PT Para baixar o IFUS em outros idiomas europeus, acesse **certest.es/viasure/labeling**. Uma vez lá, siga as instruções para acessar o idioma que você precisa. Se você precisar de informações adicionais, entre em contato: viasure@certest.es.

RO Pentru a descărca IFUS în alte limbi, vă rugăm să accesați **certest.es/viasure/labeling**. Accesat site-ul, urmați instrucțiunile pentru a selecta limba necesară. Pentru informații suplimentare, contactați: viasure@certest.es.

SV För att ladda ner IFUS från andra språk, vänligen gå in på **certest.es/viasure/labeling**. När du är där följer du instruktionerna för att få tillgång till det språk du behöver. Om du behöver ytterligare information, vänligen kontakta: viasure@certest.es.

SK Ak si chcete stiahnuť IFUS v iných jazykoch, prejdite na stránku **certest.es/viasure/labeling**. Keď sa tam dostanete, postupujte podľa pokynov a získajte prístup k požadovanému jazyku. Ak potrebujete ďalšie informácie, obráťte sa na: viasure@certest.es.

TR IFU's'u diğer dillerden indirmek için lütfen **certest.es/viasure/labeling** adresine girin. Oraya girdikten sonra, lütfen ihtiyacınız olan dile erişim için talimatları takip edin. Daha fazla bilgiye ihtiyacınız varsa, lütfen viasure@certest.es adresinden iletişime geçin.

FI Lataa suomeksi turvallinen käyttöopas osoitteesta **certest.es/viasure/labeling**. Kun olet siellä, seuraa ohjeita. Jos tarvitset lisätietoja, ota yhteyttä: viasure@certest.es.

Veuillez consulter le site **certest.es/viasure/labeling** si votre langue ne figure pas sur la liste. Veuillez contacter viasure@certest.es si votre langue ne figure pas sur le site web.

Remarque : l'utilisateur doit notifier au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel il est établi en tant qu'utilisateur et/ou patient tout incident grave lié au produit.

Contenu

1.	Destination	6
2.	Résumé et explication	6
3.	Principe de la procédure	9
4.	Réactifs fournis	10
5.	Réactifs et équipement à fournir par l'utilisateur	11
6.	Conditions de transport, de stockage et d'utilisation	11
7.	Précautions pour les utilisateurs	12
8.	Procédure de test	14
8.1.	Prélèvement, transport et stockage des échantillons	14
8.2.	Préparation de l'échantillon et extraction du NA	16
8.3.	Protocole PCR	16
8.3.1.	Création d'un programme de test PCR pour le VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System	16
8.3.2.	Préparation du portoir BD MAX™	22
8.3.3.	Préparation de l'instrument BD MAX™	24
8.3.4.	Rapport des résultats BD MAX™	24
9.	Interprétation des résultats	25
10.	Limitations du test	29
11.	Contrôle qualité	32
12.	Caractéristiques des performances analytiques	32
12.1.	Linéarité analytique	32
12.2.	Sensibilité analytique. Limite de détection (LoD)	34
12.3.	Plage de mesure	35
12.4.	Exactitude	36
12.4.1.	Justesse (véracité)	36
12.4.2.	Précision	42
12.5.	Contamination croisée (Carry-over)	47
12.6.	Taux de défaillance du système complet	48

12.7. Spécificité analytique et réactivité	48
12.7.1. Spécificité analytique	48
12.7.2. Réactivité analytique.....	54
12.8. Traçabilité métrologique	57
13. Caractéristiques des performances cliniques.....	58
Bibliographie	60
Symboles pour les composants IVD et réactifs	62
Marques commerciales	62

FRANÇAIS

1. Destination

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System est un test RT-qPCR automatisé conçu pour la détection qualitative simultanée du RNA/DNA de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (types A et B), parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4), coronavirus humains (229E, NL63, HKU1 et OC43), métapneumovirus et adénovirus dans des écouvillons nasopharyngés prélevés chez des patients pour lesquels une infection respiratoire est suspectée par leur professionnel de santé (PS). Ce test est destiné à faciliter le diagnostic d'une infection par les microorganismes mentionnés précédemment en combinaison avec les signes et symptômes cliniques du patient et/ou les facteurs de risque épidémiologiques. Les résultats positifs indiquent la présence de la cible d'acides nucléiques (NA), mais n'excluent pas la présence d'autres agents pathogènes non détectés par le test. Des résultats négatifs n'excluent pas la présence de NA cibles et ne doivent pas être utilisés comme seule base pour le traitement ou d'autres décisions de prise en charge du patient. Le test utilise BD MAX™ System pour l'extraction automatisée du RNA/DNA, puis la méthode RT-qPCR employant les réactifs fournis combinés avec des réactifs universels et consommables pour le BD MAX™ System. Le RNA/DNA est extrait d'échantillons cliniques. Le DNA complémentaire (cDNA) est synthétisé, puis les DNA/cDNA sont amplifiés par RT-qPCR et détectés à l'aide d'amorces spécifiques et de sondes marquées par une molécule fluorescente pour marquer SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (types A et B), parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4), coronavirus humains (229E, NL63, HKU1 et OC43), métapneumovirus et adénovirus.

L'utilisation de ce produit est réservée au personnel de laboratoire clinique qualifié et formé, spécifiquement instruit et formé aux techniques de PCR en temps réel et aux procédures de diagnostic *in vitro* (notamment la formation sur l'instrument de PCR en temps réel [thermocycleur] et le système d'extraction d'acides nucléiques).

2. Résumé et explication

Le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2, plus communément appelé SARS-CoV-2, est le virus respiratoire apparu à la fin de l'année 2019 et responsable de la maladie COVID-19, laquelle a ensuite été qualifiée de pandémie mondiale par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) (Fernández-Pérez et al., 2021; Hu et al., 2021; WHO | World Health Organization, 2023a). Ce nouveau coronavirus est un virus à RNA simple brin qui a été inclus dans la *famille des Coronaviridae*, genre bêta (Fernández-Pérez et al., 2021). L'infection par le SARS-CoV-2 peut toucher aussi bien les adultes que les enfants, bien que les personnes de plus de 60 ans et celles présentant des problèmes de santé préexistants soient plus susceptibles de développer une forme plus grave de COVID-19 (WHO | World Health Organization, 2023a). L'infection peut être asymptomatique ou donner lieu à plusieurs symptômes d'intensité et de gravité variables, très similaires à ceux de la grippe (CDC |, 2023; Safiabadi Tali et al., 2021).

La grippe est une infection respiratoire aiguë causée par le virus influenza, qui affecte les voies respiratoires ; elle est rencontrée et en circulation dans le monde entier (Uyeki et al., 2022; WHO | World Health Organization, 2023b). La grippe saisonnière, en particulier, est celle déclenchée par les virus influenza A et B saisonniers, tous deux responsables des épidémies saisonnières qui se produisent normalement en hiver dans les climats tempérés et tout au long de l'année dans les zones tropicales (Tyrrell et al., 2021; Uyeki et al., 2022; WHO | World Health Organization, 2023b). Les virus influenza, qui font partie de la famille des *Orthomyxoviridae*, sont des virus à RNA monocaténaire de polarité négative à huit fragments qui codent 12 protéines virales (Krammer et al., 2018; Uyeki et al., 2022). L'enveloppe virale, dérivée de la membrane plasmique de la cellule hôte, est constituée d'une bicouche lipidique contenant les protéines transmembranaires, comme l'hémagglutinine (HA), la neuraminidase (NA), la nucléoprotéine virale (NP), la protéine de la matrice (M1) ainsi que la protéine membranaire (M2) (Krammer et al., 2018).

Le virus respiratoire syncytial (RSV) est un autre virus respiratoire et saisonnier qui affecte les voies respiratoires inférieures dans toutes les tranches d'âge (WHO | World Health Organization, n.d.). Ce virus à RNA monocaténaire de polarité négative non segmenté, appartenant à la famille des *Pneumoviridae*, est connu pour affecter principalement les jeunes enfants de moins de 2 ans, mais peut également affecter gravement les adultes de plus de 65 ans et/ou les personnes immunodéprimées ou présentant des comorbidités spécifiques (Abu-Raya et al., 2023; Bergeron & Tripp, 2021; WHO | World Health Organization, n.d.).

Le diagnostic des maladies respiratoires mentionnées est difficile, car elles partagent généralement des symptômes communs (Uyeki et al., 2022). Ainsi, un diagnostic précis est essentiel non seulement pour connaître la cause de la maladie, mais aussi pour anticiper les vagues épidémiques/pandémiques et pour atténuer l'impact collatéral sur les systèmes de santé et les systèmes économiques (Safiabadi Tali et al., 2021; Uyeki et al., 2022). De nombreux types de tests de diagnostic sont disponibles (Point-of-care or rapid antigen detection) ; cependant, la RT-PCR se distingue par sa haute sensibilité et sa spécificité, et permet la détection combinée simultanée de nombreux virus respiratoires co-circulants, réduisant ainsi la durée pour établir un diagnostic (Uyeki et al., 2022).

Les maladies des voies respiratoires inférieures sont responsables d'environ quatre millions de décès par an dans le monde. Une grande variété de virus peuvent être responsables de ces maladies, certains d'entre eux sont des coronavirus, qui appartiennent à la famille des *Coronaviridae* (Friedman et al., 2018). Ces virus à distribution mondiale sont des virus enveloppés de grande taille contenant un génome RNA monocaténaire à polarité positive (Lim et al., 2016; Zeng et al., 2018). Ils sont directement liés à des maladies des voies respiratoires, du tractus gastro-intestinal et du système nerveux central. Les coronavirus se caractérisent par leur division en trois sérotypes ou groupes. Les groupes 1 et 2 désignent les coronavirus des mammifères, tandis que le groupe 3 désigne les coronavirus des oiseaux. Les coronavirus humains courants sont les souches HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63 et HCoV-HKU1 (Zeng et al., 2018). Les HCoV sont difficiles à détecter par le biais des méthodes de diagnostic couramment utilisées, car ils sont normalement co-

détectés avec d'autres virus respiratoires, tels que le HRSV ou les virus influenza (Gaunt et al., 2010). Compte tenu de tout cela, la PCR en temps réel est l'une des méthodes privilégiées pour diagnostiquer les coronavirus en raison de sa spécificité ; et plus concrètement, la PCR en temps réel qui cible le gène *N* des souches 229E, OC43 et NL63, plus le gène *rep* de la souche HKU1.

Les virus parainfluenza (PIV ou HPIV chez l'humain) appartiennent à la famille des *Paramyxoviridae* et se divisent génétiquement et antigéniquement en quatre types. Ces virus peuvent provoquer des infections respiratoires chez les nourrissons, les enfants et les adultes, le type d'infection et les symptômes spécifiques variant selon le type. Les HPIV-1 et HPIV-2 provoquent tous deux des maladies respiratoires des voies supérieures et inférieures, telles que le rhume et le croup, le HPIV-1 étant le plus souvent identifié chez les enfants. Le HPIV-3 est plus fréquemment associé à des affections respiratoires des voies inférieures telles que la bronchiolite, la bronchite et la pneumonie. Le HPIV-4 est moins fréquemment reconnu, mais peut tout de même provoquer des maladies respiratoires allant de légères à graves (Henrickson, 2003). Les parainfluenza sont des virus enveloppés de taille moyenne ; leurs génomes sont organisés sur une seule chaîne de RNA de sens négatif qui code au moins six protéines structurales communes. Ces virus portent deux glycoprotéines d'enveloppe : HN, impliquée à la fois dans l'activité hémagglutinine et neuraminidase ; et F, impliquée dans l'activité de fusion (Henrickson, 2003).

La culture virale en association avec l'immunofluorescence est la méthode traditionnelle de diagnostic, mais elle est longue (Templeton et al., 2004). Les tests de détection d'antigènes sont largement utilisés, mais ils sont moins sensibles et spécifiques que d'autres outils de diagnostic, tels que les tests PCR en temps réel (Jansen et al., 2011; Templeton et al., 2004), qui sont actuellement considérés comme l'un des meilleurs choix de méthode.

Les adénovirus appartiennent à la famille des *Adenoviridae*, des virus non enveloppés à double brin (dsDNA) (Datta, 2023; Ison & Hayden, 2016). Il existe plus de 50 sérotypes d'adénovirus humains immunologiquement distincts (Lynch & Kajon, 2016) qui sont classés en 7 espèces (Adénovirus-A à Adénovirus-G), qui peuvent provoquer des infections humaines allant des maladies respiratoires (Adénovirus-E, C et certaines espèces B) aux infections du tractus gastro-intestinal (principalement les espèces Adénovirus-A et F), aux infections urinaires (autres espèces Adénovirus-B) et à la conjonctivite (Adénovirus-D) (Buckwalter et al., 2012; Datta, 2023). La transmission peut avoir lieu par inhalation de gouttelettes en aérosol, par inoculation conjonctivale directe, par propagation féco-orale ou par exposition à des tissus ou du sang infectés (Ison & Hayden, 2016).

Les métapneumovirus humains appartiennent à la famille des *Paramyxoviridae* (Schuster & Williams, 2013) et sont une cause importante d'infection des voies respiratoires supérieures et inférieures. Le métapneumovirus est un virus enveloppé à RNA monocaténaire négatif. Les symptômes cliniques du métapneumovirus incluent toux, fièvre, congestion nasale et essoufflement, et peuvent évoluer vers une bronchiolite ou une pneumonie (Uddin & Thomas, 2020). Le métapneumovirus se transmet principalement par des gouttelettes en suspension dans l'air. Il a été signalé comme le deuxième virus le plus fréquemment

trouvé dans les infections respiratoires, les enfants de moins de cinq ans étant les plus sensibles à l'infection (Schuster & Williams, 2013).

Le diagnostic peut être problématique dans la mesure où un grand nombre d'agents pathogènes peuvent causer des infections respiratoires aiguës présentant des syndromes cliniques similaires. Ils ont d'abord été identifiés par culture cellulaire, mais le diagnostic par cette procédure prend beaucoup de temps jusqu'au développement de l'effet cytopathique. Les tests sérologiques peuvent être utiles dans les enquêtes épidémiologiques, mais ont une valeur pratique limitée pour les patients individuels (Datta, 2023; Ison & Hayden, 2016; Lynch & Kajon, 2016; Schuster & Williams, 2013). Par conséquent, la PCR en temps réel (RT-PCR) est actuellement la méthode utilisée pour l'identification de l'adénovirus et du métapneumovirus, en raison de sa grande sensibilité et de sa grande spécificité.

3. Principe de la procédure

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System est conçu pour la détection qualitative simultanée des acides nucléiques de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (types A et B), parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4), coronavirus humains (229E, NL63, HKU1 et OC43), métapneumovirus et adénovirus dans des écouvillons nasopharyngés. La détection se fait en une seule étape par RT-qPCR durant laquelle la transcription inverse et l'amplification ultérieure de la séquence cible spécifique se produisent dans le même puits à réaction. Le RNA cible isolé est rétrotranscrit afin de générer le DNA complémentaire grâce à l'action de la transcriptase inverse. Après la synthèse du cDNA ou l'isolement du DNA, l'identification de ces micro-organismes est réalisée par amplification d'une région conservée des gènes *N* et *ORF1ab* de SARS-CoV-2, du gène *M* (protéine de la matrice (M1)) d'Influenza A/B, du gène *HA* d'Influenza A sous-type H1N1, du gène *N* de RSV (types A et B), du gène *HN* de parainfluenza (types 1, 2 et 3), du gène *F* de parainfluenza (type 4), du gène *N* de coronavirus (229E, NL63, HKU1 et OC43), du gène de la *F* de métapneumovirus et du gène de l'*hexon* d'adénovirus, au moyen d'amorces spécifiques et de sondes marquées par fluorescence.

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System est basé sur l'activité exonucléase en 5' de la DNA polymérase. Pendant l'amplification du DNA, cette enzyme clive la sonde reliée à la séquence du DNA complémentaire, séparant le quencher du rapporteur. Cette réaction entraîne une augmentation du signal de fluorescence qui est proportionnelle à la quantité de matrice cible. Cette fluorescence est mesurée sur le BD MAX™ System.

Le VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contient dans chaque tube tous les composants nécessaires pour effectuer un test PCR en temps réel (amorces/sondes spécifiques, dNTPs, tampon, polymérase et rétrotranscriptase) sous une forme stabilisée¹,

¹ Veuillez noter que les termes « stabilisé » et « lyophilisé » sont indistinctement utilisés comme synonymes dans l'ensemble du document.

ainsi qu'un **contrôle interne endogène (EIC)** (gène *RNase P* humain) pour le suivi de l'intégrité de l'échantillon, pour surveiller le processus d'extraction et/ou pour écarter l'inhibition de l'activité polymérase. Les gènes présents dans le DNA humain sont impliqués dans la maintenance des cellules de base et, par conséquent, sont censés être présents dans toutes les cellules humaines nucléées et maintenir des niveaux d'expression relativement constants.

	Cible	Canal	Gène
<i>Respiratory Virus Mix I</i>	SARS-CoV-2	475/520	Gène <i>Net</i> gène <i>ORF1ab</i>
	Influenza B	530/565	Gène <i>M1</i>
	Influenza A	585/630	Gène <i>M1</i> et gène <i>HA</i>
	RSV (A/B)	630/665	Gène <i>N</i>
	Contrôle interne endogène (EIC)	680/715	Gène <i>RNase P</i> humain
<i>Respiratory Virus Mix II</i>	Parainfluenza (types 1, 2 et 3)	475/520	Gène <i>HN</i>
	Parainfluenza (type 4)		Gène <i>F</i>
	Coronavirus (229E, NL63, HKU1 et OC43)	530/565	Gène <i>N</i>
	Métapneumovirus	585/630	Gène <i>F</i>
	Adénovirus	630/665	Gène <i>hexon</i>
	Contrôle interne endogène (EIC)	680/715	Gène <i>RNase P</i> humain

Tableau 1. Cible, canal et gènes.

4. Réactifs fournis

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contient le matériel et les réactifs suivants, décrits dans le Tableau 2.

Réactif/matériel	Description	Plage de concentration	Code-barres	Quantité
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube	Lyoprotecteurs et stabilisateurs	±6 g/100 mL*	Opercule 1K	2 poches de 12 tubes transparents
	Nucléotide triphosphate (dNTPs)	±1 mM*		
	Amorces et sondes	0,2–1 nMol/µl*		
	Enzymes	10–100 U/réaction*		
<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube	Lyoprotecteurs et stabilisateurs	±6 g/100 mL*	Opercule 1M	2 poches de 12 tubes transparents
	Nucléotide triphosphate (dNTPs)	±1 mM*		
	Amorces et sondes	0,2–1 nMol/µl*		
	Enzymes	10–100 U/réaction*		
Rehydration Buffer tube	Mélange de solution saline	±13 mM	Opercule 11	1 poche de 24 tubes transparents
	Tampon (TRIS, pH)	±67 mM		

Tableau 2. Réactifs et matériaux fournis avec le VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, réf. n° 444221.

* Pour le composant au format stabilisé, la plage de concentration s'entend après réhydratation.

5. Réactifs et équipement à fournir par l'utilisateur

La liste suivante comprend les matériaux nécessaires à l'utilisation, mais non inclus dans le VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

- Instrument PCR en temps réel : BD MAX™ System (réf. : 441916).
- BD MAX™ ExK™ TNA-3 (réf. : 442827 ou 442828).
- BD MAX™ PCR Cartridges (réf. : 437519).
- Mélangeur Vortex.
- Micropipettes (exactitude entre 2 et 1000 µl).
- Eau exempte de nucléase.
- Embouts à filtre.
- Gants jetables sans poudre.

En option :

- Le matériau de contrôle externe peut être utilisé dans le cadre de la procédure de contrôle qualité de l'efficacité du test. Des matériaux de contrôle disponibles dans le commerce et des échantillons préalablement caractérisés comme positifs ou négatifs peuvent être utilisés comme contrôle positif externe (EPC) ou contrôle négatif externe (ENC), respectivement. La sélection et la validation du EPC et du ENC doivent être effectuées conformément aux réglementations locales, nationales ou fédérales applicables ainsi qu'aux procédures de contrôle qualité standard du laboratoire. En outre, lors de l'utilisation d'un matériau de contrôle disponible dans le commerce, l'utilisateur doit suivre la notice d'utilisation associées.

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a été validé en utilisant ExK™ TNA-3 (Réf. : 442827 ou 442828) sur l'instrument de PCR en temps réel BD MAX™ System.

Les échantillons sélectionnés pour l'évaluation du dispositif étaient des échantillons nasopharyngés (NF) prélevés à l'aide d'un écouvillon stérile en nylon flexible (ci-après dénommé écouvillon nasopharyngé). Après cela, l'écouvillon est placé dans le tube du BD™ Universal Viral Transport System (UVT, SKU : 220220) ou Universal Transport Media® (UTM®) (Copan).

6. Conditions de transport, de stockage et d'utilisation

- Les kits peuvent être expédiés et stockés à une température comprise entre 2 et 30 °C jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette du kit.
- Évitez les vibrations pendant le transport pour empêcher les fuites de liquide.
- Après ouverture des sachets en aluminium contenant les tubes réactionnels, le produit peut être utilisé pendant 28 jours maximum à une température comprise entre 2 et 30 °C. Conserver le flacon à l'abri de la lumière.

Le tableau suivant résume les conditions de transport, de stockage et d'utilisation de l'ensemble du kit et de chaque composant :

Composant	Conditions de transport	Conditions de stockage	Conditions d'utilisation
VIASURE <i>Respiratory Virus Extended Mix</i> Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System complet	2-30 °C pendant la durée de conservation indiquée sur l'étiquette du kit.	Avant utilisation : 2-30 °C pendant la durée de conservation indiquée sur l'étiquette du kit.	<i>* Voir les conditions d'utilisation de chaque composant.</i>
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube (opercule 1K)		Avant utilisation : 2-30 °C pendant la durée de conservation indiquée sur l'étiquette du kit. Une fois que la poche est ouverte avec le gel de silice : 2-30 °C jusqu'à 28 jours.	Température ambiante.
<i>Respiratory Virus Mix II/V</i> reaction tube (opercule 1M)		Avant utilisation : 2-30 °C pendant la durée de conservation indiquée sur l'étiquette du kit. Une fois que la poche est ouverte avec le gel de silice : 2-30 °C jusqu'à 28 jours.	Température ambiante.
Rehydration Buffer tube		Avant utilisation : 2-30 °C pendant la durée de conservation indiquée sur l'étiquette du kit. Une fois que la poche est ouverte avec le gel de silice : 2-30 °C jusqu'à 28 jours.	Température ambiante.

Tableau 3. Résumé des conditions de transport, de stockage et d'utilisation du VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System et de chaque composant.

7. Précautions pour les utilisateurs

- L'utilisation de ce produit est réservée au personnel de laboratoire clinique qualifié et formé, spécifiquement instruit et formé aux techniques de PCR en temps réel et aux procédures de diagnostic *in vitro*.
- Pour les procédures diagnostiques *in vitro*.
- Veuillez lire attentivement la notice d'utilisation du produit VIASURE et le mode d'emploi du BD MAX™ System avant toute utilisation du VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. N'effectuez pas le test avant d'avoir compris les informations sur les procédures, les consignes de sécurité et les limitations décrites dans ces documents.
- N'utilisez pas les réactifs et/ou matériaux après la date de péremption.
- N'utilisez pas le kit si l'étiquette qui scelle la boîte extérieure est déchirée.
- N'utilisez pas les réactifs dont la poche de protection est ouverte ou endommagée à la livraison.
- N'utilisez pas les réactifs dont les poches de protection sont ouvertes ou fissurées à la livraison.
- N'utilisez pas les réactifs sans absorbeur d'humidité ou si celui-ci est cassé à l'intérieur des poches de réactifs.
- Ne retirez pas l'absorbeur d'humidité des poches de réactifs.
- N'utilisez pas les réactifs dont l'opercule en aluminium est cassé ou endommagé.
- Ne mélangez pas des réactifs provenant de poches, de kits et/ou de lots différents.

- Refermez rapidement les poches de protection des réactifs avec la fermeture à glissière étanche après chaque utilisation afin de protéger le master mix de la lumière du soleil. Expulsez tout excès d'air des poches avant de les sceller.
- Protégez les réactifs contre l'humidité. Toute exposition prolongée à l'humidité risque d'altérer l'efficacité du produit.
- Pour éviter la détérioration de l'étiquette, ne pas utiliser le produit à proximité de solvants.
- Une apparence du mélange réactionnel au format stabilisé, se trouvant normalement au fond du tube, différente de celle habituelle (sans forme conique, inhomogène, de taille plus petite/plus grande et/ou de couleur autre que blanchâtre) n'altère pas la fonctionnalité du test.
- Assurez-vous que le tube réactionnel et le tube du tampon de réhydratation sont bien clipsés en position pendant la préparation du portoir BD MAX™.
- Si d'autres tests PCR sont menés dans la même zone commune du laboratoire, assurez-vous que le VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, BD MAX™ ExK™ TNA-3 extraction kit, tout réactif supplémentaire requis pour le test et le BD MAX™ System ne sont pas contaminés. Assurez-vous de toujours éviter tout risque de contamination microbienne et par ribonucléase (RNase)/désoxyribonucléase (DNase) des réactifs. L'utilisation d'embouts de pipette stériles, exempts de RNase/DNase, à usage unique, résistants aux aérosols ou à déplacement positif est fortement recommandée. Utilisez un nouvel embout pour chaque échantillon. Changez de gants avant toute manipulation de réactifs et de cartouches (BD MAX™ PCR Cartridge)
- Pour éviter toute contamination de l'environnement par des amplicons, abstenez-vous de désassembler la BD MAX™ PCR Cartridge après utilisation. Les joints de la BD MAX™ PCR Cartridge sont conçus pour éviter une contamination.
- Élaborez un flux de travail unidirectionnel. Il doit commencer dans la zone d'extraction, puis passer dans la zone d'amplification et de détection. Ne ramenez pas les échantillons, l'équipement et les réactifs dans la zone où s'est déroulée l'étape précédente.
- Suivez les bonnes pratiques de laboratoire. Portez des vêtements de protection, utilisez des gants, lunettes de protection et masque jetables. Abstenez-vous de manger, de fumer ou d'appliquer des produits cosmétiques dans la zone de travail. Lavez-vous les mains une fois que vous avez terminé le test.
- Traitez les échantillons, ainsi que tout réactif et tout matériau ayant été exposés à ces derniers, comme des agents potentiellement infectieux et/ou présentant un danger biologique, et manipulez-les conformément aux réglementations nationales applicables en matière de sécurité. Prenez les précautions nécessaires pendant la collecte, le transport, le stockage, la manipulation et l'élimination des échantillons.
- Les échantillons et les réactifs doivent être manipulés dans une enceinte de sécurité biologique. Utilisez un équipement de protection individuelle (EPI) conforme aux directives en vigueur pour la manipulation

d'échantillons potentiellement infectieux. Éliminez les déchets conformément aux réglementations locales et nationales.

- Une décontamination régulière de l'équipement fréquemment utilisé est recommandée, en particulier des micropipettes et des surfaces de travail.
- Conformément au règlement (CE) n° 1907/2006 (REACH), les VIASURE Real Time PCR Detection Kits for BD MAX™ System ne font pas l'objet de fiches de données de sécurité (Safety Data Sheets) dans la mesure où ils sont classés comme produits non dangereux pour la santé et l'environnement, dès lors qu'ils ne contiennent aucune substance et/ou composition correspondant aux critères de classification des dangers énoncés dans le règlement (CE) n° 1272/2008 (CLP) ou dont la concentration est supérieure à la valeur établie dans ledit règlement à des fins de déclaration. Une déclaration indiquant qu'aucune fiche de données de sécurité n'est requise peut être demandée à Certest Biotec.
- Assurez-vous que la définition du programme de test PCR sur BD MAX™ System est réalisée conformément aux instructions de la section « PCR protocol » (Protocole PCR), c'est-à-dire aux paramètres d'extraction de l'échantillon, aux codes-barres personnalisés, aux réglages PCR, etc.
- Consultez la notice d'utilisation du BD MAX™ System pour en savoir plus sur les avertissements, les précautions et les procédures à respecter.
- Le certificat d'analyse n'est pas fourni avec le dispositif, mais vous pouvez le télécharger depuis le site web de CerTest Biotec S.L. (www.certest.es) au besoin.

8. Procédure de test

8.1. Prélèvement, transport et stockage des échantillons

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a été testé sur des écouvillons nasopharyngés prélevés avec un écouvillon flexible en nylon stérile et placés immédiatement dans un tube stérile contenant 3 mL de BD™ Universal Viral Transport System (UVT, SKU : 220220)² ou Universal Transport Media® (UTM®) (Copan)³. Tout autre type d'échantillon doit être validé par l'utilisateur.

La collecte, le stockage et le transport des échantillons doivent être conformes aux conditions validées par l'utilisateur. De manière générale, les échantillons cliniques doivent être prélevés et étiquetés de manière appropriée dans des contenants propres avec ou sans milieu de transport (en fonction du type d'échantillon). Après le prélèvement, les échantillons doivent être placés dans un sac de protection contre les risques biologiques et doivent être transportés et traités dès que possible pour garantir la qualité du test. Les échantillons doivent être transportés à température ambiante (TA) pendant 2 heures maximum, ou à 4 °C pendant 5 jours maximum, conformément aux réglementations locales et nationales relatives au transport de matières porteuses d'agents pathogènes. Pour un transport de longue durée (plus de 5 jours), nous

² BD universal viral transport system. <https://www.bd.com/en-us/products-and-solutions/products/product-families/bd-universal-viral-transport-system>

³ <https://www.copangroup.com/product-ranges/utm/>

recommandons une expédition à une température inférieure ou égale à -20 °C⁴. Les échantillons soumis à des tests moléculaires doivent être conservés dans des conditions contrôlées afin que les acides nucléiques ne se dégradent pas pendant le stockage. Il est recommandé d'utiliser des échantillons frais pour le test, mais si cela n'est pas possible ou dans le cadre d'une étude rétrospective, les échantillons doivent être conservés de préférence à -70 ou -80 °C et, à défaut, à -20 °C⁵. Il convient d'éviter les cycles de congélation-décongélation répétés afin de prévenir toute dégradation de l'échantillon et des acides nucléiques.

Les échantillons cliniques doivent être prélevés, transportés et stockés conformément aux directives spécifiques du laboratoire ainsi qu'au manuel détaillant sa politique. À titre d'exemples, veuillez consulter les recommandations de l'IDSA (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... et Pritt B.S., 2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94) or Sánchez-Romero, M. I., García-Lechuz Moya, J. M., González López, J. J., & Orta Mira, N. (2019). Recogida, transporte y procesamiento general de las muestras en el laboratorio de Microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 37(2), 127–134. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2017.12.002>.

Remarque : les conditions de prélèvement, de transport et de conservation des échantillons indiquées ci-dessus sont suggérées sur la base des recommandations relatives aux échantillons nasopharyngés destinés à la détection d'acides nucléiques, telles qu'elles figurent dans le rapport de recommandations du SEIMC référencé pour les procédures générales de prélèvement et de transport en microbiologie clinique et dans le guide officiel de l'IDSA. Néanmoins, nous recommandons de suivre les directives du laboratoire et/ou le manuel des politiques du laboratoire pour le transport et la conservation appropriés des échantillons.

Une étude interne de stabilité des échantillons a été réalisée avec sur VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System en utilisant un écouvillon nasopharyngé négatif recueilli dans le BD™ Universal Viral Transport System et enrichi avec les cibles du produit, chaque souche à une concentration de 2-3xLoD. La stabilité a été évaluée à l'aide de trois types d'essais : la stabilité primaire (25 °C : 24 et 48 heures ; 4 °C : 1, 2 et 7 jours ; -20 °C : 2, 3 et 6 mois), stabilité dans le tube de tampon d'échantillon (3 et 7 jours à 25 °C et 4 °C) et stabilité imbriquée (les échantillons ont été incubés à 4 °C et 25 °C pendant 48 heures, puis ajoutés au SBT et analysés après 3 et 7 jours à 4 °C et 25 °C). Par ailleurs, les échantillons ont été analysés après avoir subi cinq cycles de congélation (à -20 °C) et de décongélation (à 25 °C) pendant une semaine. Les résultats ont montré une bonne performance des échantillons stockés dans toutes les conditions testées.

⁴ IDSA guideline (Miller, J. M., Binnicker, M. J., Campbell, S., ... & Pritt B.S., 2018). A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2018 update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. *Clinical Infectious Diseases*, 67(6), e1-e94))

⁵ Sánchez-Romero M.I., García-Lechuz Moya J.M., González López J.J. et Orta Mira N. Collection, transport and general processing of clinical specimens in Microbiology laboratory. *Enfermedades Infecc. y Microbiol. Clin.* (English ed.) 37, 127-134 (2019).

8.2. Préparation de l'échantillon et extraction du NA

Préparez l'échantillon selon les recommandations figurant dans la notice d'utilisation du kit d'extraction utilisé, BD MAX™ ExK™ TNA-3.

1. Pipettez 400 µl de l'échantillon dans un BD MAX™ ExK™ TNA-3 Sample Buffer Tube et fermez le tube avec un bouchon à septum. Mélangez l'échantillon soigneusement avant de l'agiter à haute vitesse au vortex pendant 1 minute. Assurez-vous que l'agitation au vortex est effectuée quelques minutes avant de lancer l'analyse. Poursuivez avec le BD MAX™ System Operation.

Remarque : l'utilisateur devra élaborer et valider des procédures de préparation de l'extraction spécifiques à l'application et que certains autres échantillons peuvent nécessiter un prétraitement.

8.3. Protocole PCR

Remarque : veuillez consulter la notice d'utilisation du BD MAX™ System pour des instructions détaillées.

8.3.1. Création d'un programme de test PCR pour le VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System

Remarque : Si vous avez déjà créé le test pour le VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, vous pouvez ignorer l'étape 8.3.1 et passer directement à l'étape 8.3.2.

- 1) Sur l'écran « Run » (Exécuter) du BD MAX™ System, sélectionnez l'onglet « Test Editor » (Éditeur de test).
- 2) Cliquez sur la touche « Create » (Créer).

Dans l'onglet « Basic Information » (Informations de base) :

- 3) Dans le champ « Test Name » (Nom du test), attribuez un nom à votre test, par exemple VIASURE Resp. Virus.

Remarque : Le nom du test doit être unique et comporter au maximum vingt caractères.

- 4) Dans le menu déroulant « Extraction Type » (Type d'extraction), sélectionnez « ExK TNA-3 ».
- 5) Dans le menu déroulant « Master Mix Format » (Format Master Mix), sélectionnez « Dual Master Mix Concentrated Lyophilized MM with Rehydration Buffer (Type 5) » (Master Mix double, MM lyophilisé concentré avec tampon de réhydratation). Lorsque « Dual Master Mix » (Master Mix double) est sélectionné, la configuration de l'onglet sur la droite de l'onglet « Test Editor » (Éditeur de test) change. Il existe des onglets supplémentaires pour « PCR settings » (Réglages PCR), « Melt settings » (Réglages Melt) et « Test Steps » (Étapes du test) pour les deux tubes à clipser.

- 6) Dans le champ « Sample Extraction Parameters » (Paramètres d'extraction de l'échantillon), sélectionnez « User Defined » (Défini par l'utilisateur) et réglez les valeurs des paramètres suivants (Tableau 4).

<i>Sample Extraction Parameters</i> (Paramètres d'extraction de l'échantillon)	<i>Value (units)</i> (Valeur (unités))
<i>Lysis Heat Time</i> (Durée de chauffe pour la lyse)	10 min
<i>Lysis Temperature</i> (Température de la lyse)	60 °C
<i>Sample Tip Height</i> (Hauteur de pointe de l'échantillon)	1 600 steps
<i>Sample Volume</i> (Volume de l'échantillon)	950 µl
<i>Wash Volume</i> (Volume de lavage)	500 µl
<i>Neutralization Volume</i> (Volume de neutralisation)	N/A
<i>DNase Heat Time</i> (Durée de chauffe pour la DNase)	N/A

Tableau 4. Paramètres de l'extraction de l'échantillon réalisée avec BD MAX™ ExK™ TNA-3.

- 7) Dans le champ « Ct Calculation » (Calcul Ct), sélectionnez « Call Ct at Threshold Crossing » (Résultats Ct au croisement du seuil), sélectionné par défaut.
- 8) Si vous utilisez une version logicielle 5.00 ou supérieure et si vous disposez de tubes « Snap-In » (à clipser) avec un opercule à code-barres, sélectionnez la configuration suivante dans le champ « Custom Barcodes » (codes personnalisés) :
- « Snap-In 2 Barcode » (Code-barres Clip 2) : 1K (relatif au *Respiratory Virus Mix I* Reaction tube).
 - « Snap-In 3 Barcode » (Code-barres Clip 3) : 11 (pour le Rehydration Buffer tube).
 - « Snap-In 4 Barcode » (Code-barres Clip 4) : 1M (relatif au *Respiratory Virus Mix II* Reaction tube).

Sous l'onglet « PCR Settings » (Réglages PCR) :

- 9) Dans le champ « PCR Settings » (Réglages PCR), saisissez les paramètres décrits dans les Tableaux 5 et 6 pour le clip 2 (snap-in 2) (code couleur vert sur le portoir) et le clip 4 (snap-in 4) (code couleur bleu sur le portoir), respectivement : « Alias » (jusqu'à sept caractères alphanumériques), « PCR Gain » (Gain PCR), « Threshold » (Seuil), « Ct Min » et « Ct Max ».

<i>Channel</i> (Canal)	<i>Alias</i> (Pseudo)	<i>PCR Gain</i> (Gain PCR)	<i>Threshold</i> (Seuil)	<i>Ct Min</i> (Ct min)	<i>Ct Max</i> (Ct max)
475/520 (FAM)	SARS	80	150	0	40
530/565 (HEX)	FLUB	40	150	0	40
585/630 (ROX)	FLUA	80	150	0	40
630/665 (Cy5)	RSV	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	EIC	80	150	0	35

Tableau 5. « PCR settings2 (Réglages PCR) pour le clip 2.

<i>Channel</i> (Canal)	<i>Alias</i> (Pseudo)	<i>PCR Gain</i> (Gain PCR)	<i>Threshold</i> (Seuil)	<i>Ct Min</i> (Ct min)	<i>Ct Max</i> (Ct max)
475/520 (FAM)	HPIV	60	150	0	40
530/565 (HEX)	HCOV	40	150	0	40
585/630 (ROX)	MPV	80	150	0	40
630/665 (Cy5)	HADV	80	150	0	40
680/715 (Cy5.5)	EIC	80	150	0	35

Tableau 6. « PCR settings » (Réglages PCR) pour le clip 4.

Remarque : il est recommandé de définir les valeurs seuils minimales indiquées ci-dessus comme point de départ pour chaque canal, mais les réglages finaux doivent être définis par l'utilisateur final lors de l'interprétation des résultats afin de garantir que les seuils se situent dans la phase exponentielle des courbes de fluorescence et au-dessus de tout signal de fond. La valeur seuil peut varier selon les instruments en raison des différentes intensités de signal.

- 10) Sous l'onglet « Color compensation » (Compensation de couleur), saisissez les paramètres suivants (Tableaux 7 et 8).

		False Receiving Channel (Canal de fausse réception)					
		Channel (Canal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Canal d'excitation)	475/520	-	4	0	0	0	
	530/565	1	-	0	0	0	
	585/630	0	0	-	1	0	
	630/665	0	0	3	-	18	
	680/715	0	0	0	1,5	-	

Tableau 7. Paramètres « Color compensation » (Compensation de couleur) pour le clip 2.

		False Receiving Channel (Canal de fausse réception)					
		Channel (Canal)	475/520	530/565	585/630	630/665	680/715
Excitation Channel (Canal d'excitation)	475/520	-	0	0	0	0	
	530/565	0	-	0	0	0	
	585/630	0	0	-	3	0	
	630/665	0	0	5	-	19	
	680/715	0	0	0	3	-	

Tableau 8. Paramètres « Color compensation » (Compensation de couleur) pour le clip 4.

Sous les onglets « Melt Settings » (Paramètres Melt), aucune action n'est nécessaire, il n'est pas applicable à ce produit.

Sous l'onglet « Test Steps » (Étapes du test) :

- 11) Saisissez le nom de l'étape (jusqu'à vingt caractères) et définissez les paramètres suivants pour chaque étape du protocole PCR : « Profile Type » (Type de profil), « Cycles » (Cycles), « Time » (Durée) et « Temperature » (Température), puis sélectionnez le champ « Detect » (Détecter) pour définir l'étape de détection (Tableau 9). Cliquez sur le bouton « Add » (Ajouter) pour ajouter une nouvelle étape, et répétez l'opération jusqu'à ce que toutes les étapes nécessaires soient définies.

Remarque : Le champ « Type » doit être vide.

<i>Step</i> (Étape)	<i>Step name</i> (Nom de l'étape)	<i>Profile Type</i> (Type de profil)	<i>Cycles</i> (Cycles)	<i>Time (s)</i> (Temps [s])	<i>Temperature</i> (Température)	<i>Detect</i> (Détecter)
Reverse transcription (Transcription inverse)	RV-transcription	<i>Hold</i>	1	900	45 °C	-
Initial denaturation (Dénaturation initiale)	IN-denaturation	<i>Hold</i>	1	120	98 °C	-
Denaturation and Annealing/Extension (Data collection) (Dénaturation et appariement/extension (collecte de données))	Annealing/Extension	<i>2- Température</i>	45	10	95 °C	-
				61,1	63 °C	✓

Tableau 9. Protocole PCR pour le clip 2 (snap-in 2) et le clip 4 (snap-in 4).

Sous l'onglet « Result Logic » (Logique des résultats) :

- 12) Dans le champ « Target » (Cible), nommez votre cible, c'est-à-dire SARS (jusqu'à sept caractères alphanumériques). Répétez les étapes 12 à 15 pour chaque cible (c'est-à-dire SARS, FLUB, FLUA et RSV pour le clip 2 (snap-in 2) ou HPIV, HCOV, MPV et HADV pour le clip 4 (snap-in 4)) en suivant les tableaux spécifiques à la cible en cours de détection.

Remarque : Sélectionnez le clip 2 (vert) (snap-in 2 (green)) dans le menu déroulant « Master Mix » (Master Mix) pour établir la logique de résultat pour le premier mélange réactionnel et le clip 4 (bleu) (snap-in 4 (blue)) pour le second. Les noms des cibles doivent être différents pour le clip 2 et le clip 4.

- 13) Cliquez sur la case à cocher « Analyze » (Analyser) pour inclure les longueurs d'onde souhaitées (canaux PCR) dans l'analyse du résultat de la cible (Tableaux 10-13 pour le clip 2 et Tableaux 14-17 pour le clip 4).

Premier mélange réactionnel (*Respiratory Virus Mix / reaction tube*) : Clip 2 (vert) (snap-in 2 (green))

<i>Wavelength</i> (Longueur d'onde)	<i>Alias</i> (Pseudo)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyser)
475/520	SARS	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tableau 10. Sélection des canaux PCR dans « Result logic » (Logique des résultats) pour la cible SARS (SARS-CoV-2).

<i>Wavelength</i> (Longueur d'onde)	<i>Alias</i> (Pseudo)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyser)
530/565	FLUB	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tableau 11. Sélection des canaux PCR dans « Result logic » (Logique des résultats) pour la cible FLUB (Influenza B).

<i>Wavelength</i> (Longueur d'onde)	<i>Alias</i> (Pseudo)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyser)
585/630	FLUA	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tableau 12. Sélection des canaux PCR dans « Result logic » (Logique des résultats) pour la cible FLUA (Influenza A).

<i>Wavelength</i> (Longueur d'onde)	<i>Alias</i> (Pseudo)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyser)
630/665	RSV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tableau 13. Sélection des canaux PCR dans l'onglet « Result logic » (Logique de résultat) pour la cible RSV (Respiratory Syncytial Virus types A et B).

Second mélange réactionnel (*Respiratory Virus Mix II* reaction tube) : Clip 4 (bleu) (snap-in 4 (blue))

<i>Wavelength</i> (Longueur d'onde)	<i>Alias</i> (Pseudo)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyser)
475/520	HPIV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tableau 14. Sélection des canaux PCR dans l'onglet « Result logic » (Logique de résultat) pour la cible HPIV (Parainfluenza types 1, 2, 3 et 4).

<i>Wavelength</i> (Longueur d'onde)	<i>Alias</i> (Pseudo)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyser)
530/565	HCOV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tableau 15. Sélection des canaux PCR dans l'onglet « Result logic » (Logique de résultat) pour la cible HCOV (Coronavirus 229E, NL63, HKU1 et OC43).

<i>Wavelength</i> (Longueur d'onde)	<i>Alias</i> (Pseudo)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyser)
585/630	MPV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tableau 16. Sélection des canaux PCR dans « Result logic » (Logique des résultats) pour la cible MPV (Métagneumovirus).

<i>Wavelength</i> (Longueur d'onde)	<i>Alias</i> (Pseudo)	<i>Type</i> (Type)	<i>Analyze</i> (Analyser)
630/665	HADV	PCR	✓
680/715	EIC	PCR	✓

Tableau 17. Sélection des canaux PCR dans « Result logic » (Logique des résultats) pour la cible HADV (Adénovirus).

14) Cliquez sur le bouton « Edit Logic » (Modifier logique).

15) La fenêtre « Edit Logic » (Modifier logique) répertorie toutes les combinaisons de types de résultats. Pour chaque ligne, dans le menu déroulant « Result » (Résultat), sélectionnez le résultat qui est appelé lorsque les conditions de cette ligne sont remplies, en vous référant aux Tableaux 18-21 pour clip 2 et Tableaux 22-25 pour clip 4.

Premier mélange réactionnel (*Respiratory Virus Mix I* reaction tube) : Clip 2 (vert) (snap-in 2 (green))

<i>Result</i> (Résultat)	<i>SARS</i> (475/520)	<i>EIC</i> (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NÉG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 18. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible SARS (SARS-CoV-2). Les résultats disponibles sont POS (positif), NÉG (négatif) et UNR (non résolu).

<i>Result</i> (Résultat)	FLUB (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NÉG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 19. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible FLUB (Influenza B). Les résultats disponibles sont POS (positif), NÉG (négatif) et UNR (non résolu).

<i>Result</i> (Résultat)	FLUA (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NÉG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 20. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible FLUA (Influenza A). Les résultats disponibles sont POS (positif), NÉG (négatif) et UNR (non résolu).

<i>Result</i> (Résultat)	RSV (630/665)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NÉG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 21. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible RSV (Respiratory Syncytial Virus types A et B). Les résultats disponibles sont POS (positif), NÉG (négatif) et UNR (non résolu).

Remarque : En fonction du Ct max défini précédemment (Tableau 5) :

- i. Le type de résultat pour les canaux SARS (475/520), FLUB (530/565), FLUA (585/630) ou RSV (630/665) est considéré comme « Valid » (Valide) lorsque la valeur Ct obtenue est ≤ 40 ; et « Invalid » (Non valide) lorsque la valeur Ct obtenue est > 40 .
- ii. Le type de résultat pour le canal EIC (680/715) est considéré comme « Valid » (Valide) lorsque la valeur Ct obtenue est ≤ 35 ; et « Invalid » (Non valide) lorsque la valeur Ct obtenue est > 35 .

Second mélange réactionnel (*Respiratory Virus Mix II* reaction tube) : Clip 4 (snap-in 4 (blue))

<i>Result</i> (Résultat)	HPIV (475/520)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NÉG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 22. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible HPIV (Parainfluenza types 1, 2, 3 et 4). Les résultats disponibles sont POS (positif), NÉG (négatif) et UNR (non résolu).

<i>Result</i> (Résultat)	HCOV (530/565)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NÉG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 23. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible HCOV (Coronavirus 229E, NL63, HKU1 et OC43). Les résultats disponibles sont POS (positif), NÉG (négatif) et UNR (non résolu).

<i>Result</i> (Résultat)	MPV (585/630)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NÉG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 24. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible MPV (Métapneumovirus). Les résultats disponibles sont POS (positif), NÉG (négatif) et UNR (non résolu).

<i>Result</i> (Résultat)	HADV (630/665)	EIC (680/715)
POS	Valid (Valide)	Valid (Valide)
UNR	Valid (Valide)	Invalid (Non valide)
NÉG	Invalid (Non valide)	Valid (Valide)
UNR	Invalid (Non valide)	Invalid (Non valide)

Tableau 25. Liste de la combinaison des types de résultats et de la logique de résultat pour la cible HADV (Adénovirus). Les résultats disponibles sont POS (positif), NÉG (négatif) et UNR (non résolu).

Remarque : En fonction du Ct max défini précédemment (tableau 6) :

- i. Le type de résultat pour les canaux HPIV (475/520), HCOV (530/565), MPV (585/630) ou HADV (630/665) est considéré comme « Valid » (Valide) lorsque la valeur Ct obtenue est ≤ 40 ; et « Invalid » (Non valide) lorsque la valeur Ct obtenue est > 40 .
- ii. Le type de résultat pour le canal EIC (680/715) est considéré comme « Valid » (Valide) lorsque la valeur Ct obtenue est ≤ 35 ; et « Invalid » (Non valide) lorsque la valeur Ct obtenue est > 35 .

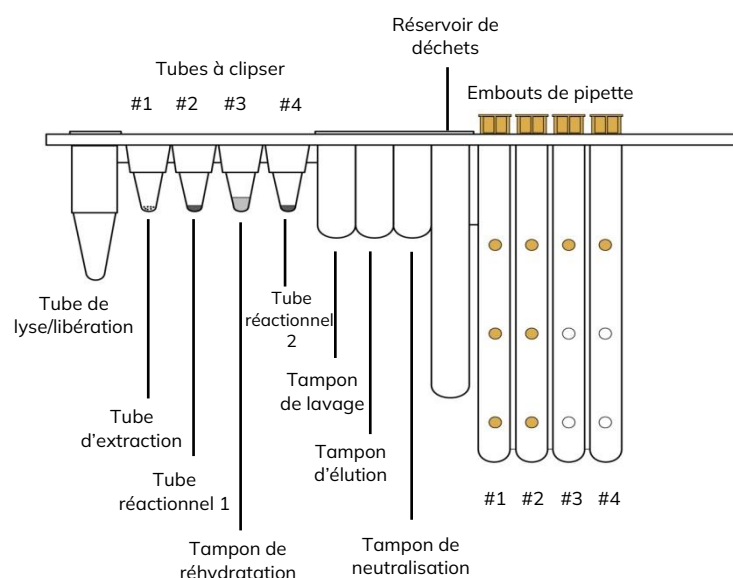
16) Cliquez sur le bouton « Save » (Enregistrer) pour enregistrer le test.

8.3.2. Préparation du portoir BD MAX™

- 1) Prenez une Unitized Reagent Strips du BD MAX™ ExK™ TNA-3 Kit pour chaque échantillon à tester. Tapotez doucement chaque barrette sur une surface dure afin de vous assurer que les liquides se trouvent au fond des tubes et chargez les barrettes sur les portoirs d'échantillons du BD MAX™ System.
- 2) Sortez le nombre nécessaire de BD MAX™ ExK™ TNA Extraction Tubes (B4) (opercule blanc) de leur poche de protection. Clipsez le(s) Extraction Tube(s) (opercule blanc) dans la position correspondante sur la barrette TNA (clip position 1, code couleur blanc sur le portoir - voir Figure 1). Expulsez l'excès d'air et scellez la poche avec la fermeture à glissière.

- 3) Déterminez et séparez le nombre approprié de *Respiratory Virus Mix I* reaction tubes (opercule 1K) et clipsez-les dans leur position sur la barrette (clip position 2, code couleur vert sur le portoir - voir Figure 1).
 - a. Expulsez l'excès d'air et scellez les poches en aluminium avec la fermeture à glissière.
 - b. Afin d'obtenir une réhydratation optimale, veuillez vous assurer que le produit lyophilisé se trouve au fond du tube et n'adhère pas à la partie supérieure du tube ou à l'opercule de scellage. Tapotez doucement chaque tube sur une surface dure afin de vous assurer que le produit se trouve intégralement au fond du tube.
- 4) Sortez le nombre nécessaire de Rehydration Buffer tubes (opercule 11) et clipsez-les dans leur position sur la barrette (clip position 3, sans code couleur sur le portoir – voir Figure 1).
 - a. Expulsez l'excès d'air et scellez la poche avec la fermeture à glissière.
 - b. Afin de réaliser un transfert optimal, veuillez vous assurer que le liquide se trouve au fond du tube et n'adhère pas à la partie supérieure du tube ou à l'opercule de scellage. Tapotez doucement chaque tube sur une surface dure afin de vous assurer que le tampon se trouve entièrement au fond du tube.
- 5) Déterminez et séparez le nombre approprié de *Respiratory Virus Mix II* reaction tubes (opercule 1M) et clipsez-les dans leur position sur la barrette (clip position 4, code couleur vert sur le portoir - voir Figure 1).
 - a. Expulsez l'excès d'air et scellez les poches en aluminium avec la fermeture à glissière.
 - b. Afin d'obtenir une réhydratation optimale, veuillez vous assurer que le produit lyophilisé se trouve au fond du tube et n'adhère pas à la partie supérieure du tube ou à l'opercule de scellage. Tapotez doucement chaque tube sur une surface dure afin de vous assurer que le produit se trouve intégralement au fond du tube.

Figure 1. Bande BD MAX™ TNA Reagent (TNA) du BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit.



8.3.3. Préparation de l'instrument BD MAX™

- 1) Sélectionnez l'onglet « Worklist » (Liste de travail) sur l'écran « Run » (Exécuter) du logiciel BD MAX™ System (version 4.50A ou supérieure).
- 2) Dans le menu déroulant « Test » (Test), sélectionnez le test souhaité, par exemple VIASURE Resp virus (s'il n'est pas déjà créé, voir la section 8.3.1).
- 3) Dans le menu déroulant « Kit Lot Number » (Code de lot du kit), sélectionnez le code de lot correspondant au kit (il se trouve à l'extérieure de la boîte du kit d'extraction utilisé) ; cela est facultatif.

Remarque : Les codes de lot doivent être définis dans l'écran « Inventory » (Inventaire) avant de pouvoir être sélectionnés ici.

- 4) Saisissez le numéro d'identification du Sample Buffer Tube (tube de tampon d'échantillon) dans le champ « Sample Tube » (tube d'échantillon), soit en scannant le code-barres, soit par saisie manuelle.
- 5) Renseignez le champ « Patient ID » (ID du patient) ou « Accession » et cliquez sur l'onglet ou la touche Entrée. Poursuivez ainsi jusqu'à ce que tous les codes-barres des Sample Buffer Tubes (tube de tampon d'échantillon) soient saisis. Assurez-vous que le Specimen/Patient ID (identifiant de l'échantillon/du patient) et les Sample Buffer Tubes (tube de tampon d'échantillon) sont correctement appariés.
- 6) Placez le Sample Buffer Tube préparé dans le(s) portoir(s) du BD MAX™ Rack(s).
- 7) Chargez le(s) portoir(s) dans le BD MAX™ System (le portoir A est positionné du côté gauche de l'instrument et le portoir B du côté droit).
- 8) Chargez le nombre nécessaire de cartouche(s) PCR BD MAX™ Cartridge(s) dans le BD MAX™ System.
- 9) Fermez la porte du BD MAX™ System.
- 10) Cliquez sur « Start » (Démarrer) pour commencer la procédure.

8.3.4. Rapport des résultats BD MAX™

- 1) Dans la barre de menu, cliquez sur la touche « Results » (Résultats).
- 2) Faites un double-clic sur votre programme dans la liste ou appuyez sur la « View » (Aperçu).
- 3) Les boutons « Print » (Imprimer) et « Export » (Exporter) au bas de l'écran seront activés.

Pour imprimer les résultats :

1. Cliquez sur le bouton « Print » (Imprimer).
2. Dans la fenêtre d'aperçu « Print » (Imprimer) du rapport d'exécution, sélectionnez : « Run Details » (Détails du programme), « Test Details » (Détails du test) et « Plot » (Tracé).
3. Cliquez sur « Print » (Imprimer) pour imprimer le rapport, ou cliquez sur « Export » (Exporter) pour exporter un fichier PDF du rapport vers une clé USB.

Pour exporter les résultats :

1. Cliquez sur le bouton « Export » (Exporter) pour transférer le rapport (fichier PDF et CSV) vers une clé USB.
2. Lorsque l'exportation est terminée, l'icône de réussite ou d'échec apparaît dans la fenêtre « Results Export » (Exportation des résultats).

9. Interprétation des résultats

Pour plus de détails sur la manière d'analyser les données, veuillez consulter la notice d'utilisation du BD MAX™ System.

L'analyse des données est effectuée par le logiciel BD MAX™ selon les instructions du fabricant. Le logiciel BD MAX™ rapporte les valeurs Ct et les courbes d'amplification pour chaque canal détecteur de chaque échantillon testé de la manière suivante :

- Une valeur Ct de 0 indique qu'il n'y a pas de valeur Ct calculée par le logiciel avec le seuil spécifié (voir Tableau 5). Une courbe d'amplification de l'échantillon affichant une valeur Ct de « 0 » doit faire l'objet d'un examen manuel.
- Une valeur Ct de -1 indique qu'aucun processus d'amplification n'a eu lieu, qu'aucune valeur Ct n'a été calculée par le logiciel ou que la valeur Ct calculée est inférieure au seuil spécifié ou supérieure à la valeur Ct Max établie (valeur limite).
- Toute autre valeur Ct doit être interprétée en corrélation avec la courbe d'amplification et selon la logique des résultats définie, en suivant les directives d'interprétation énoncées dans les Tableaux 26 et 27.

Vérifiez le signal du contrôle interne endogène pour vous assurer du fonctionnement correct du mélange d'amplification. Vérifiez en outre qu'il n'y a pas de rapport de défaillance du BD MAX™ System.

Il convient de lire et d'analyser les résultats à l'aide du tableau suivant :

Premier mélange réactionnel (<i>Respiratory Virus Mix</i> / reaction tube) : Clip 2 (Snap-In 2)				
SARS-CoV-2 (nom de la cible : SARS)	Influenza B (nom de la cible : FLUB)	Influenza A (nom de la cible : FLUA)	Virus respiratoire syncytial (nom de la cible : RSV)	Interprétation pour chaque échantillon individuel de patient
POS	POS	POS	POS	RNA de SARS-CoV-2, Influenza B, Influenza A et RSV détectés
POS	POS	POS	NÉG	RNA de SARS-CoV-2, Influenza B et Influenza A détectés et RNA de RSV non détecté
POS	POS	NÉG	POS	RNA de SARS-CoV-2, Influenza B et RSV détectés et RNA de Influenza A non détecté

POS	NÉG	POS	POS	RNA de SARS-CoV-2, Influenza A et RSV détectés et RNA de Influenza B non détecté
NÉG	POS	POS	POS	RNA de Influenza B, Influenza A et RSV détectés et RNA de SARS-CoV-2 non détecté
POS	POS	NÉG	NÉG	RNA de SARS-CoV-2 et Influenza B détectés et RNA de Influenza A et RSV non détectés
POS	NÉG	POS	NÉG	RNA de SARS-CoV-2 et Influenza A détectés et RNA de Influenza B et RSV non détectés
POS	NÉG	NÉG	POS	RNA de SARS-CoV-2 et RSV détectés et RNA de Influenza B et Influenza A non détectés
NÉG	POS	POS	NÉG	RNA de Influenza B et Influenza A détectés et RNA de SARS-CoV-2 et RSV non détectés
NÉG	POS	NÉG	POS	RNA de Influenza B et RSV détectés et RNA de SARS-CoV-2 et Influenza A non détectés
NÉG	NÉG	POS	POS	RNA de Influenza A et RSV détectés et RNA de SARS-CoV-2 et Influenza B non détectés
POS	NÉG	NÉG	NÉG	RNA de SARS-CoV-2 détecté et RNA de Influenza B, Influenza A et RSV non détectés
NÉG	POS	NÉG	NÉG	RNA de Influenza B détecté et RNA de SARS-CoV-2, Influenza A et RSV non détectés
NÉG	NÉG	POS	NÉG	RNA de Influenza A détecté et RNA de SARS-CoV-2, Influenza B et RSV non détectés
NÉG	NÉG	NÉG	POS	RNA de RSV détecté et RNA de SARS-CoV-2, Influenza B et Influenza A non détectés
NÉG	NÉG	NÉG	NÉG	RNA cibles non détectés
UNR	UNR	UNR	UNR	Résultat non résolu (UNR) obtenu en présence d'inhibiteurs de la réaction PCR ou en cas de problème d'ordre général (non signalé par un code d'erreur) survenu lors du traitement de l'échantillon ou des étapes d'amplification. ¹
IND	IND	IND	IND	Résultat de test indéterminé (IND, Indeterminate assay result) En raison d'une défaillance du BD MAX™ System. Résultat du test affiché lorsqu'une défaillance de l'instrument est liée à un code d'erreur. ²
INC	INC	INC	INC	Résultat de test incomplet (INC, Incomplete assay result) En raison d'une défaillance du BD MAX™ System. Résultat du test affiché en cas de défaillance de l'exécution complète. ²

Tableau 26. Interprétation de l'échantillon.

1 Le contrôle interne endogène (EIC) doit présenter un signal d'amplification avec une valeur Ct ≤ 35 pour être pris en compte. En l'absence de signal pour EIC ou la valeur Ct > 35, le résultat est considéré non résolu (UNR) et un nouveau test est nécessaire. Vérifiez le rapport de résultat et les valeurs Ct des cibles sélectionnées et prenez les mesures appropriées en tenant compte des éléments suivants :

- I. Lorsque les résultats des gènes cibles sont invalides ($Ct > 40$, ce qui est indiqué par le logiciel comme une « -1 »), il est nécessaire de répéter le test à partir de l'échantillon primaire en préparant à nouveau le Sample Buffer Tube (SBT) si le volume de l'échantillon est suffisant. Suivez les directives du laboratoire et les manuels de politique du laboratoire de microbiologie.
- II. Lorsque les résultats des gènes cibles sont valides ($Ct \leq 40$), il est possible de ne pas observer d'amplification ou une amplification du EIC avec une valeur $Ct > 35$ (affiché par le logiciel comme un résultat « -1 ») lors du test d'échantillons hautement concentrés, en raison d'une amplification préférentielle des acides nucléiques spécifiques à la cible. Si cela est jugé nécessaire, diluez ces échantillons au 1/10, préparez à nouveau le Sample Buffer Tube (SBT) et répétez le test. Suivez les directives du laboratoire et les manuels de politique du laboratoire de microbiologie.

REMARQUE : Les écouvillons nasopharyngés peuvent être conservés sans transfert dans le SBT pendant 2 jours maximum s'ils sont stockés à 25 °C ou pendant 7 jours maximum s'ils sont stockés à 4 °C.

2 Des résultats indéterminés (IND) ou incomplets (INC) peuvent être obtenus en raison d'une défaillance du système et un nouveau test est alors nécessaire. Consultez la notice d'utilisation du BD MAX™ System pour l'interprétation des codes d'avertissement et d'erreur.

Second mélange réactionnel (<i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube) : Clip 4 (Snap-In 4)				
Parainfluenza (nom de la cible : HPIV)	Coronavirus (nom de la cible : HCOV)	Métapneumovirus (nom de la cible : MPV)	Adénovirus (nom de la cible : HADV)	Interprétation pour chaque échantillon individuel de patient
POS	POS	POS	POS	RNA/DNA de parainfluenza, coronavirus, métapneumovirus et adénovirus détectés
POS	POS	POS	NÉG	RNA de parainfluenza, coronavirus et métapneumovirus détectés, DNA d'adénovirus non détecté
POS	POS	NÉG	POS	RNA/DNA de parainfluenza, coronavirus et adénovirus détectés, RNA de métapneumovirus non détecté
POS	NÉG	POS	POS	RNA/DNA de parainfluenza, métapneumovirus et adénovirus détectés, RNA de coronavirus non détecté
NÉG	POS	POS	POS	RNA/DNA de coronavirus, métapneumovirus et adénovirus détectés, RNA de parainfluenza non détecté
POS	POS	NÉG	NÉG	RNA de parainfluenza et coronavirus détectés, RNA/DNA de métapneumovirus et adénovirus non détectés
POS	NÉG	POS	NÉG	RNA de parainfluenza et métapneumovirus détectés, RNA/DNA de coronavirus et adénovirus non détectés
POS	NÉG	NÉG	POS	RNA/DNA de parainfluenza et adénovirus détectés, RNA de coronavirus et métapneumovirus non détectés
NÉG	POS	POS	NÉG	RNA de coronavirus et métapneumovirus détectés, RNA/DNA de parainfluenza et adénovirus non détectés

NÉG	POS	NÉG	POS	RNA/DNA de coronavirus et adénovirus détectés, RNA de parainfluenza et métapneumovirus non détectés
NÉG	NÉG	POS	POS	RNA/DNA de métapneumovirus et adénovirus détectés, RNA de parainfluenza et coronavirus non détectés
POS	NÉG	NÉG	NÉG	RNA de parainfluenza détecté, RNA/DNA de coronavirus, métapneumovirus et adénovirus non détectés
NÉG	POS	NÉG	NÉG	RNA de coronavirus détecté, RNA/DNA de parainfluenza, métapneumovirus et adénovirus non détectés
NÉG	NÉG	POS	NÉG	RNA de métapneumovirus détecté, RNA/DNA de parainfluenza, coronavirus et adénovirus non détectés
NÉG	NÉG	NÉG	POS	DNA d'adénovirus détecté, RNA de parainfluenza, coronavirus et métapneumovirus non détectés
NÉG	NÉG	NÉG	NÉG	RNA cibles non détectés
UNR	UNR	UNR	UNR	Résultat non résolu (UNR) obtenu en présence d'inhibiteurs de la réaction PCR ou en cas de problème d'ordre général (non signalé par un code d'erreur) survenu lors du traitement de l'échantillon ou des étapes d'amplification. ¹
IND	IND	IND	IND	Résultat de test indéterminé (IND, Indeterminate assay result) En raison d'une défaillance du BD MAX™ System. Résultat du test affiché lorsqu'une défaillance de l'instrument est liée à un code d'erreur. ²
INC	INC	INC	INC	Résultat de test incomplet (INC, Incomplete assay result) En raison d'une défaillance du BD MAX™ System. Résultat du test affiché en cas de défaillance de l'exécution complète. ²

Tableau 27. Interprétation de l'échantillon.

1 Le contrôle interne endogène (EIC) doit présenter un signal d'amplification avec une valeur $C_t \leq 35$ pour être pris en compte. En l'absence de signal pour EIC ou la valeur $C_t > 35$, le résultat est considéré non résolu (UNR) et un nouveau test est nécessaire. Vérifiez le rapport de résultat et les valeurs C_t des cibles sélectionnées et prenez les mesures appropriées en tenant compte des éléments suivants :

- I. Lorsque les résultats des gènes cibles sont invalides ($C_t > 40$, ce qui est indiqué par le logiciel comme une « -1 »), il est nécessaire de répéter le test à partir de l'échantillon primaire en préparant à nouveau le Sample Buffer Tube (SBT) si le volume de l'échantillon est suffisant. Suivez les directives du laboratoire et les manuels de politique du laboratoire de microbiologie.
- II. Lorsque les résultats des gènes cibles sont valides ($C_t \leq 40$), il est possible de ne pas observer d'amplification ou une amplification du EIC avec une valeur $C_t > 35$ (affiché par le logiciel comme un résultat « -1 ») lors du test d'échantillons hautement concentrés, en raison d'une amplification préférentielle des acides nucléiques spécifiques à la cible. Si cela est jugé nécessaire, diluez ces échantillons au 1/10, préparez à nouveau le Sample Buffer Tube (SBT) et répétez le test. Suivez les directives du laboratoire et les manuels de politique du laboratoire de microbiologie.

REMARQUE : Les écouvillons nasopharyngés peuvent être conservés sans transfert dans le SBT pendant 2 jours maximum s'ils sont stockés à 25 °C ou pendant 7 jours maximum s'ils sont stockés à 4 °C.

2 Des résultats indéterminés (IND) ou incomplets (INC) peuvent être obtenus en raison d'une défaillance du système et un nouveau test est alors nécessaire. Consultez la notice d'utilisation du BD MAX™ System pour l'interprétation des codes d'avertissement et d'erreur.

Remarque : Lors de l'utilisation de contrôles externes, ceux-ci doivent donner les résultats attendus suivants : négatif pour le ENC et positif pour le EPC (les échantillons connus positifs ne doivent être positifs que pour le ou les microorganismes présents dans l'échantillon). Un ENC qui donne un résultat de test positif indique une contamination ou une erreur de manipulation de l'échantillon. Un EPC qui donne un résultat négatif indique un problème de manipulation ou de préparation de l'échantillon. Vérifiez la technique de manipulation ou de préparation de l'échantillon. En cas d'échec d'un contrôle externe, un nouveau test est nécessaire.

Si le résultat reste ambigu, il est recommandé de revoir la notice d'utilisation, le processus d'extraction mis en œuvre par l'utilisateur, de vérifier la bonne exécution de chaque étape de la PCR et de revoir les paramètres, et enfin, de vérifier la forme sigmoïde de la courbe et l'intensité de la fluorescence.

Les résultats du test doivent être évalués par un professionnel de la santé en tenant compte des antécédents médicaux, des symptômes cliniques et d'autres tests diagnostiques.

10. Limitations du test

- Les résultats du test doivent être évalués par un professionnel de la santé en tenant compte des antécédents médicaux, des symptômes cliniques et d'autres tests diagnostiques.
- Bien que ce test puisse être utilisé avec d'autres types d'échantillons, il a uniquement été validé avec des échantillons nasopharyngés.
- Pour une bonne exécution du test, le produit lyophilisé doit se trouver au fond du tube et ne pas adhérer à la partie supérieure du tube ou à l'opercule de scellage. Tapotez doucement chaque tube sur une surface dure afin de vous assurer que le produit se trouve intégralement au fond du tube.
- La qualité du test dépend de la qualité de l'échantillon ; l'acide nucléique doit être correctement extrait des échantillons cliniques.
- Ce test est qualitatif et ne fournit pas de valeurs quantitatives ni n'indique le nombre d'organismes présents. Il n'est pas possible de corréler les valeurs Ct obtenues par PCR avec la concentration de l'échantillon, car elles dépendent du thermocycleur utilisé et de l'analyse elle-même.
- Il est possible que soient détectés des niveaux très faibles de cibles, inférieurs à la limite de détection, mais que les résultats ne soient pas reproductibles.
- Veuillez noter la plage de mesure prévue pour le test, car les échantillons dont la concentration est supérieure ou inférieure à cette plage peuvent donner des résultats erronés.

- Il existe une possibilité de faux positifs dus à une contamination croisée par SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (types A et B), parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4), coronavirus humains (229E, NL63, HKU1 et OC43), métapneumovirus et adénovirus contenant de fortes concentrations de RNA/DNA cibles ou à cause de la contamination par des produits PCR issus de réactions antérieures.
- Les combinaisons d'amorces et de sondes spécifiques pour la détection des gènes *N* et *ORF1ab* de SARS-CoV-2, du gène *M* (protéine de la matrice (M1) d'Influenza A/B, du gène *HA* d'Influenza A sous-type H1N1, du gène *N* de RSV (types A et B), du gène *HN* de parainfluenza (types 1, 2 et 3), du gène de la *F* de parainfluenza (type 4), du gène *N* de coronavirus (229E, NL63, HKU1 et OC43), du gène de la *F* de métapneumovirus et du gène *hexon* d'adénovirus, utilisées dans le VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, ne présentent pas d'homologies combinées significatives avec le génome humain, la microflore humaine ou d'autres micro-organismes respiratoires, ce qui pourrait entraîner des faux positifs prévisibles.
- Les résultats faux négatifs peuvent être le fait de plusieurs facteurs et de leurs combinaisons, notamment :
 - Des méthodes de prélèvement, de transport, de stockage et/ou de manipulation des échantillons inappropriées.
 - Des procédures de traitement inappropriées (notamment pour l'extraction du RNA/DNA).
 - La dégradation de RNA/DNA durant l'expédition, le stockage et/ou le traitement de l'échantillon.
 - Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison de l'amorce ou de la sonde peuvent affecter la détection de souches nouvelles ou inconnues de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (types A et B), parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4), coronavirus humains (229E, NL63, HKU1 et OC43), métapneumovirus et/ou adénovirus.
 - Dans l'échantillon, une charge virale inférieure à la limite de détection pour le test.
 - La présence d'inhibiteurs de RT-qPCR ou d'autres types de substances interférentes. L'impact des vaccins, de certaines thérapies antivirales, des antibiotiques, des chimiothérapies ou des médicaments immunosuppresseurs ou antifongiques utilisés pour prévenir l'infection ou utilisés pendant le traitement de l'infection n'a pas été évalué.
 - L'effet de substances interférentes n'a été évalué que pour celles indiquées dans la section 12.7.1 (Étude des substances interférentes) de cette notice d'utilisation. Une interférence a été observée lors des tests de fluticasone (1,26E-06 mg/mL) et de nicotine (3,00E-02 mg/mL) dans le *Respiratory Virus Mix I* reaction tube et le *Respiratory Virus Mix II* reaction tube. Veuillez consulter cette section pour vérifier les substances endogènes et exogènes les plus courantes qui induisent une interférence totale ou partielle de la réaction RT-qPCR. D'autres substances non indiquées dans cette partie pourraient conduire à des résultats erronés.
 - Le non-respect de la notice d'utilisation et de la procédure de test.

- Un résultat de test positif ne traduit pas nécessairement la présence de virus viables et n'implique pas que ceux-ci soient infectieux ou à l'origine des symptômes cliniques. Toutefois, un résultat positif indique la présence de séquences de virus cibles.
- Les résultats négatifs n'excluent pas la présence de RNA/DNA de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (types A et B), parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4), coronavirus humains (229E, NL63, HKU1 et OC43), métapneumovirus et/ou adénovirus dans un échantillon clinique et ils ne doivent pas servir comme fondement unique pour le traitement ou d'autres décisions de prise en charge du patient. Les types d'échantillons et le moment des pics de concentration microbienne optimaux pendant les infections causées par ces microorganismes n'ont pas été déterminés. Le prélèvement de plusieurs échantillons (types et moments) sur un même patient peut s'avérer nécessaire pour détecter l'agent pathogène.
- Il est possible que la détection de certaines souches circulantes de 2019 appartenant à la lignée Victoria du virus influenza B soit compromise en raison de mutations ponctuelles dans ces nouvelles souches. Seule l'inclusivité d'Influenza B a été testée pour les variantes contenant les mutations C54T, C55T et C120T (séquence de référence NC002210.1).
- Si les tests de diagnostic d'autres maladies respiratoires sont négatifs et que les observations cliniques, les antécédents du patient et les informations épidémiologiques suggèrent une possibilité d'infection par SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (types A et B), parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4), coronavirus humains (229E, NL63, HKU1 et OC43), métapneumovirus et/ou adénovirus, il faut alors envisager un résultat faux négatif et discuter de la réalisation d'un nouveau test pour le patient.
- Les valeurs de fluorescence peuvent varier en raison de multiples facteurs tels que : Équipement PCR (même s'il s'agit du même modèle), système d'extraction, type d'échantillon, traitement préalable de l'échantillon, etc., entre autres.
- Le dispositif comprend des amorces et des sondes détectant spécifiquement la souche de Influenza A H1N1pdm09. Une souche de grippe pandémique ne peut être exclue, et des tests supplémentaires doivent être envisagés en cas de résultat positif pour le virus influenza A.
- Les valeurs prédictives positives et négatives dépendent fortement de la prévalence dans tous les tests de diagnostic *in vitro*. La performance de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System peut varier en fonction de la prévalence et de la population testée.
- En cas de résultats non résolus, indéterminés ou incomplets avec le VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, l'exécution d'un nouveau test est exigée. Les résultats non résolus peuvent découler de la présence d'inhibiteurs dans l'échantillon ou d'une réhydratation incorrecte du tube de mélange réactionnel lyophilisé. En cas de défaillance de l'instrument, les résultats obtenus seront indéterminés ou incomplets.

11. Contrôle qualité

VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System contient, dans chaque tube réactionnel, un contrôle interne endogène (EIC) qui confirme la bonne performance de la technique. En outre, l'utilisation de contrôles externes (EPC et ENC) permet de confirmer les performances du test. Les contrôles externes ne sont pas utilisés par BD MAX™ System pour l'interprétation des résultats, mais sont considérés comme un échantillon. Le contrôle positif externe (EPC) est destiné à surveiller une éventuelle défaillance des réactifs du test, tandis que le contrôle négatif externe (ENC) est destiné à détecter une contamination de l'environnement ou des réactifs par des acides nucléiques cibles.

12. Caractéristiques des performances analytiques

12.1. Linéarité analytique

La linéarité du test a été déterminée et confirmée en testant une série de dilutions au dixième d'échantillons d'écouvillons nasopharyngés contenant une concentration connue de RNA/DNA spécifique et synthétique appartenant à SARS-CoV-2, virus Influenza A, virus Influenza B, virus respiratoire syncytial, virus parainfluenza, coronavirus, métapneumovirus et adénovirus (allant de $2E+07$ à $2E+00$ copies par μl). Un exemple de diagramme d'amplification obtenu à la suite d'un test est présenté ci-dessous :

Figure 2. Dilution en série du SARS-CoV-2 (de $2E+07$ à $2E+00$ copies/ μl), modèle réalisé sur BD MAX™ System (canal 475/520 [FAM]).

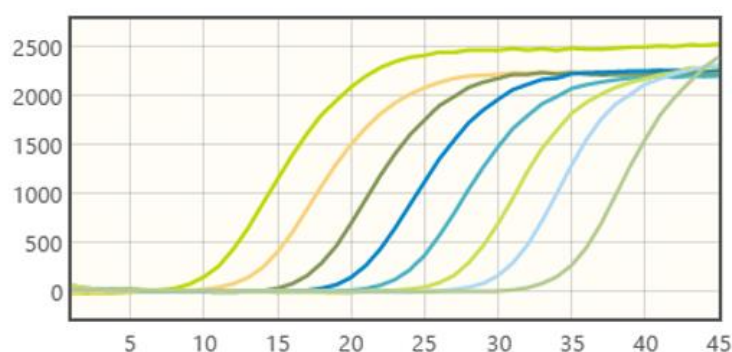


Figure 3. Dilution en série du virus Influenza B (de $2E+07$ à $2E+00$ copies/ μl), modèle réalisé sur BD MAX™ System (canal 530/565 [HEX]).

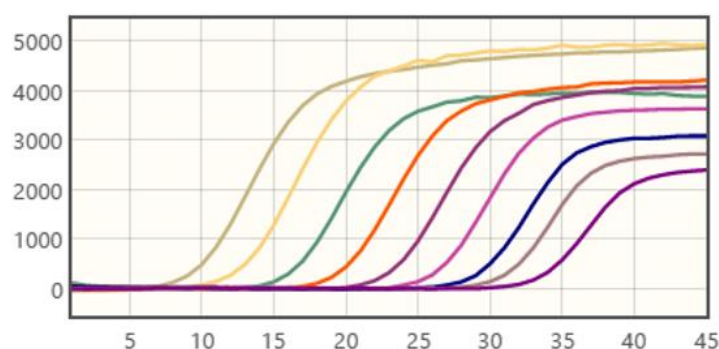


Figure 4. Dilution en série du virus Influenza A (de $2E+07$ à $2E+00$ copies/ μ l), modèle réalisé sur BD MAX™ System (canal 585/630 [ROX]).

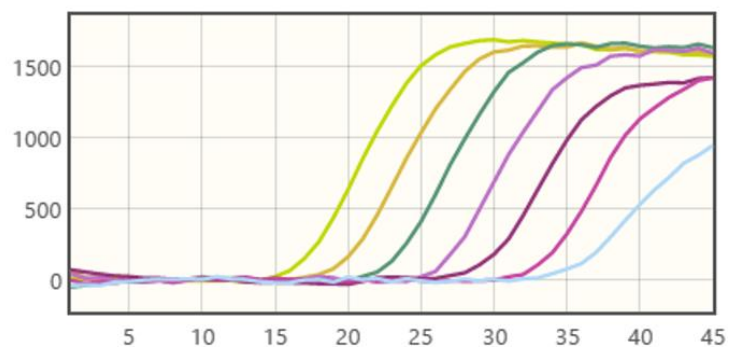


Figure 5. Dilution en série du RSV (de $2E+07$ à $2E+00$ copies/ μ l), modèle réalisé sur BD MAX™ System (canal 630/665 [Cy5]).

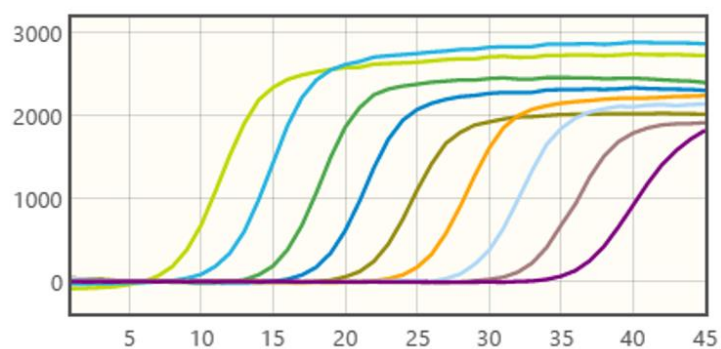


Figure 6. Dilution en série du parainfluenza (de $2E+07$ à $2E+00$ copies/ μ l), modèle réalisé sur BD MAX™ System (canal 475/520 [FAM]).

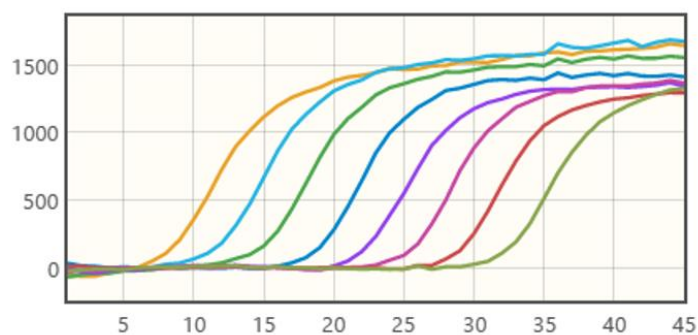


Figure 7. Dilution en série du coronavirus (de $2E+07$ à $2E+00$ copies/ μ l), modèle réalisé sur BD MAX™ System (canal 530/565 [HEX]).

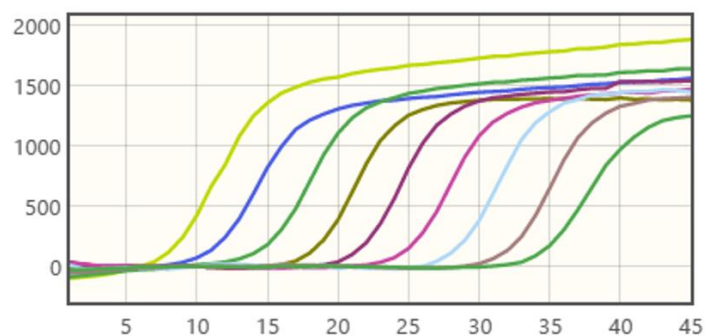


Figure 8. Dilution en série du métapneumovirus (de 2E+07 à 2E+00 copies/μl), modèle réalisé sur BD MAX™ System (canal 585/630 [ROX]).

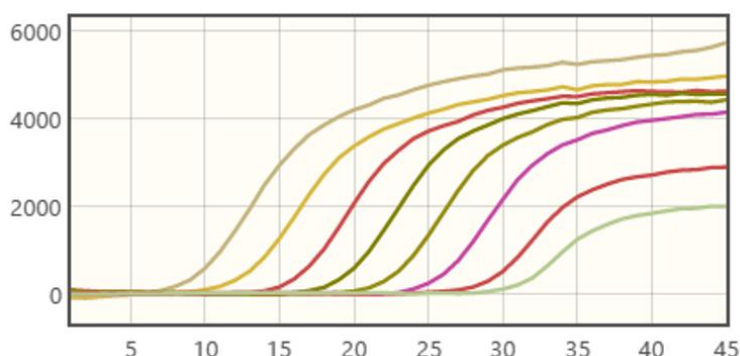
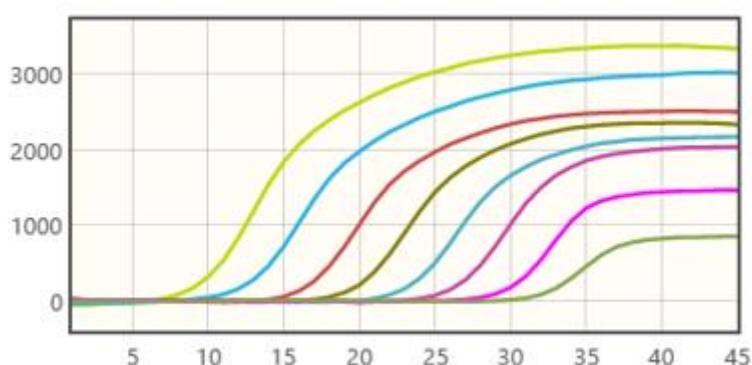


Figure 9. Dilution en série de l'adénovirus (de 2E+07 à 2E+00 copies/μl), modèle réalisé sur BD MAX™ System (canal 630/665 [Cy5]).



12.2. Sensibilité analytique. Limite de détection (LoD)

La sensibilité analytique ou la limite de détection (LoD) du VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a été analysée avec trois lots en utilisant des échantillons nasopharyngés négatifs prélevés dans le BD™ Universal Viral Transport System enrichis avec les souches de référence ou le RNA synthétique présentés en détail dans le tableau suivant :

Virus	Souche/RNA synthétique	Référence externe
SARS-CoV-2	Heat-inactivated SARS-CoV-2 souche 2019-n-CoV/USA-WA1/2020	VR-1986HK
Influenza A	Virus Influenza A (H1N1) souche A/PR/8/34	VR-95PQ
Influenza B	Influenza B virus (Lignée Yamagata) souche B/Florida/4/2006	VR-1804PQ
RSV A	Virus respiratoire syncytial humain A souche Long	VR-26PQ
RSV B	Virus respiratoire syncytial humain B souche 9320	FR-293
Parainfluenza virus type 1	Virus parainfluenza humain 1 souche C35	VR-94
Parainfluenza virus type 2	Virus parainfluenza humain 2 souche Greer	VR-92
Parainfluenza virus type 3	Virus parainfluenza humain 3 souche C 243	VR-93

Parainfluenza virus type 4	Virus parainfluenza humain 4b souche CH 19503	VR-1377
Coronavirus OC43	Bêtacoronavirus 1	VR-1558
Coronavirus 229E	Human coronavirus 229E	VR-740
Coronavirus NL63	Coronavirus humain souche NL63	FR-304
Coronavirus HKU1	RNA synthétique quantitatif de coronavirus humain HKU1	ATCC-VR3262SD
Métapneumovirus	Culture liquide de métapneumovirus humain 8 (hMPV-8) Type B2 (Inactivé par la chaleur)	0810159CF
Adénovirus	Adénovirus humain 1 souche Adenoid 71	VR-1

Tableau 28. Souches de référence et RNA synthétique utilisés pour les tests de performance du VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System (test LoD).

De plus, dans le cas de la cible SARS-CoV-2, la LoD (IU/μl) a été analysée en utilisant le 1st WHO International Standard SARS-CoV-2 RNA (code NIBSC 20/146). Les résultats de LoD obtenus pour le VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System sont présentés en détail dans le tableau suivant :

Écouvillon nasopharyngé			
<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube			
SARS	FLUA	FLUB	RSV
4,5E+00 IU/μL	6,7E-01 copies/μL	7,29E+00 copies/μL*	1,35E+00 copies/μL RSV A 2,52E+01 TCID50/mL RSV B
<i>Respiratory virus Mix II</i> reaction tube			
HPIV	HCOV	MPV	HADV
5,33E+00 TCID50/mL HPIV 1 4,80E+00 TCID50/mL HPIV 2 9,00E+02 TCID50/mL HPIV 3 1,44E+01 TCID50/mL HPIV 4	4,80E-02 TCID50/mL HCOV OC43 1,60E-01 TCID50/mL HCOV 229E 4,80E-03 TCID50/mL HCOV NL63 6,00E+00 copies/μL HCOV HKU1	5,10E-02 TCID50/mL	6,00E+00 TCID50/mL

Tableau 29. Résultats pour la limite de détection du VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. IU = Unité internationale, TCID50 = Dose infectieuse médiane (50 %) en culture tissulaire.

12.3. Plage de mesure

La plage de mesure du test a été déterminée en testant une série de dilutions au dixième contenant une concentration connue de RNA/DNA spécifique et synthétique appartenant à SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (types A et B), parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4), coronavirus humains (229E, NL63, HKU1 et OC43), métapneumovirus et adénovirus. Les résultats ont permis de confirmer la détection correcte des cibles de 2E+07 à 2E+00 copies/μl, sauf pour HCoV-HKU1 dont la plage de mesure va de 2E+06 à 2E+00 copies/μl.

En conclusion, la plage de mesure de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a été déterminée avec succès selon les critères de validation d'acceptation initialement définis, garantissant des résultats fiables, précis et reproductibles sur un large spectre de charges virales, affirmant son utilité dans divers scénarios de diagnostic clinique.

12.4. Exactitude

12.4.1. Justesse (véracité)

La véracité du VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a été évaluée en testant le matériel de référence indiqué ci-dessous dans des échantillons nasopharyngés négatifs prélevés dans le BD™ Universal Viral Transport System.

1. Fragments de DNA synthétique

- Fragment de DNA synthétique pour le gène *ORF1* de SARS-CoV-2 : NCOXPC, canal FAM.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *N* de SARS-CoV-2 : NCOXPC, canal FAM.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *M1* de Flu A : YIAXPC, canal ROX.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *HA* de Flu A : HNVXPC, canal ROX.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *M1* de Flu B : YIBXPC, canal HEX.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *N* de RSV A : RSAXPC, canal Cy5.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *N* de RSV B : RSBXPC, canal Cy5.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *HN* de parainfluenza 1 : PIXPC, canal FAM.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *HN* de parainfluenza 2 : PIXPC, canal FAM.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *HN* de parainfluenza 3 : PIXPC, canal FAM.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *F* de parainfluenza 4 : PIXPC, canal FAM.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *N* de coronavirus OC43 : CORXPC, canal HEX.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *N* de coronavirus-229E : CORXPC, canal HEX.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *N* de coronavirus-NL63 : CORXPC, canal HEX.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *N* de coronavirus HKU1 : CORXPC, canal HEX.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *F* de métapneumovirus : MPVXPC, canal ROX.
- Fragment de DNA synthétique pour le gène *hexon* de l'adénovirus : ADVXPC, canal Cy5.

Tous les fragments de DNA synthétique ont été correctement détectés dans le canal approprié.

2. The American Type Culture Collection (« ATCC® »)

Référence externe	Microorganisme	Nom du produit	Variété	Résultat
VR-1986HK	SARS-CoV-2	Heat-inactivated SARS-CoV-2	2019-nCoV/USA-WA1/2020	Détection
VR-3276SD	SARS-CoV-2	Quantitative Synthetic SARS-CoV-2 RNA : ORF, E, N	S.O.	Détection
VR-1986D	SARS-CoV-2	Genomic RNA from 2019 Novel Coronavirus	SARS-Related Coronavirus 2, Isolat USA-WA1/2020	Détection

VR-95PQ	Flu A	Influenza A virus (H1N1), Purified	A/PR/8/34	Détection
VR-1804PQ	Flu B	Influenza B virus (Yamagata Lineage), Purified	B/Florida/4/2006	Détection
VR-26PQ	RSV-A	Human respiratory syncytial virus, High titer	Souche Long	Détection
VR-94	Parainfluenza virus 1	Human parainfluenza virus 1 (HPIV-1)	Souche C35	Détection
VR-92	Parainfluenza virus 2	Human parainfluenza virus 2 (HPIV-2)	Souche Greer	Détection
VR-93	Parainfluenza virus 3	Human parainfluenza virus 3 (HPIV-3)	Souche C 243	Détection
VR-1377	Parainfluenza virus 4	Human parainfluenza virus 4 (HPIV-4b)	Souche CH 19503	Détection
VR-1558	Coronavirus OC43	Bêta coronavirus 1	Souche OC43	Détection
VR-740	Coronavirus 229E	Human coronavirus 229E	Souche 229E	Détection
VR-3262SD	Coronavirus HKU1	Quantitative Synthetic Human Coronavirus Strain HKU1 RNA	Souche HKU1	Détection
VR-3263SD	Coronavirus NL63	Quantitative Synthetic Human coronavirus Strain NL63 RNA	Souche NL63	Détection
VR-3250SD	Métapneumovirus	Synthetic Human metapneumovirus RNA	S.O.	Détection
VR-1	Adénovirus	Human adenovirus 1	Souche Adenoid 71	Détection
VR-6	Adénovirus	Human Adenovirus 6	Type 6 (espèce C) souche Tonsil 99	Détection
VR-16	Adénovirus	Human Adenovirus 15	Type 15 (espèce D) souche 305 [955, CH. 38]	Détection
VR-3343	Adénovirus	Human adenovirus 31	Type 31 (espèce A) souche 1315/63	Détection

Tableau 30. Matériel de référence de l'American Type Culture Collection (ATCC®).

Toutes les souches de l'ATCC ont été correctement détectées dans le canal approprié et l'EIC a montré une amplification avec une valeur $Ct \leq 35$.

3. The International Reagent Resource (IRR™)

Référence externe	Microorganisme	Nom du produit	Variété	Résultat
FR-293	RSV-B	Human Respiratory Syncytial Virus B	Souche 9320	Détection
FR-304	Coronavirus NL63	Human Coronavirus, Strain NL63	Souche NL63	Détection

FR-1	Flu A	Influenza A virus	A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	Détection
FR-3	Flu A	Influenza A virus	A/South Dakota/6/2007 (H1N1)	Détection
FR-5	Flu A	Influenza A virus	A/Hawaii/31/2007 (H1N1)	Détection
FR-6	Flu A	Influenza A virus	A/Qatar/1123/2007 (H1N1)	Détection
FR-7	Flu A	Influenza A virus	A/Cambodia/0371/2007 (H1N1)	Détection
FR-8	Flu A	Influenza A virus	A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	Détection
FR-12	Flu A	Influenza A virus	A/Taiwan/760/2007 (H3N2)	Détection
FR-13	Flu A	Influenza A virus	A/Texas/71/2007 (H3N2)	Détection
FR-27	Flu A	Influenza A virus	A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2)	Détection
FR-28	Flu A	Influenza A virus	A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1)	Détection
FR-29	Flu A	Influenza A virus	A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1)	Détection
FR-201	Flu A	Influenza A virus	A/California/07/2009(H1N1)pdm09	Détection
FR-202	Flu A	Influenza A virus	A/California/08/2009(H1N1)pdm09	Détection
FR-203	Flu A	Influenza A virus	A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09	Détection
FR-245	Flu A	Influenza A virus	A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09	Détection
FR-246	Flu A	Influenza A virus	A/California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09	Détection
FR-16	Flu B	Influenza B virus	B/Pennsylvania/7/2007 (Lignée Yamagata)	Détection
FR-17	Flu B	Influenza B virus	B/Santiago/4364/2007 (Lignée Yamagata)	Détection
FR-18	Flu B	Influenza B virus	B/Brisbane/3/2007 (Lignée Yamagata)	Détection
FR-19	Flu B	Influenza B virus	B/Pennsylvania/5/2007 (Lignée Victoria)	Détection
FR-20	Flu B	Influenza B virus	B/Victoria/304/2006 (Lignée Victoria)	Détection
FR-183	Flu B	Influenza B virus	B/Bangladesh/3333/2007 (Lignée Yamagata)	Détection
FR-294	RSV A	Human Respiratory Syncytial Virus	Souche A-2	Détection

Tableau 31. Matériel de référence de l'International Reagent Resource (IRR™).

Toutes les souches de l'IRR ont été correctement détectées dans le canal approprié et l'EIC a montré une amplification avec une valeur $Ct \leq 35$.

4. National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)

Référence externe	Microorganisme	Nom du produit	Variété	Résultat
20/146	SARS-CoV-2	First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA	Isolat England/02/2020	Détection
20/110	SARS-CoV-2	2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) Working Reagent for NAT	S.O.	Détection
19/304	SARS-CoV-2	Research Reagent for SARS-CoV-2 RNA	S.O.	Détection
08/176	Parainfluenza virus 1	Parainfluenza Virus Serotype 1	S.O.	Détection
08/178	Parainfluenza virus 2	Parainfluenza Virus Serotype 2	S.O.	Détection
08/180	Parainfluenza virus 4	Parainfluenza Virus Serotype 1	S.O.	Détection
08/320	Métapneumovirus	Human Metapneumovirus Working Reagent for NAT	S.O.	Détection
16/324	Adénovirus	First WHO International Standard for Human Adenovirus DNA	Type 2	Détection

Tableau 32. Matériel de référence de l'Institut national des normes et contrôles biologiques (NIBSC).

Toutes les souches de l'NIBSC ont été correctement détectées dans le canal approprié et l'EIC a montré une amplification avec une valeur Ct ≤ 35.

5. BEI Resources

Référence externe	Microorganisme	Nom du produit	Variété	Résultat
NR-52287	SARS-CoV-2	SARS-Related Coronavirus 2	Isolat USA-WA1/2020, Gamma-Irradiated	Détection
NR-28530	RSV	Human Respiratory Syncytial Virus, A2000/3-4	Souche A2000/3-4	Détection
NR-22227	Métapneumovirus	Human metapneumovirus	TN/83-1211	Détection

Tableau 33. Matériel de référence de BEI Resources.

Toutes les souches de BEI Resources ont été correctement détectées dans le canal approprié et l'EIC a montré une amplification avec une valeur Ct ≤ 35.

6. Matériau de contrôle

Référence externe	Microorganisme	Nom du produit	Variété	Résultat
Fluarix Tetra 2022/2023	Flu A/Flu B	Influenza vaccine Fluarix Tetra 2022/2023	Flu A/Victoria/2570/2019 Flu A/Darwin/6/2021 Flu B/Austria/1359417/2021 Flu B/Phuket/3073/2013	Détection

Fluarix Tetra 2023/2024	Flu A/Flu B	Influenza vaccine Fluarix Tetra 2023/2024	Flu A/Victoria/4897/2022 Flu A/Darwin/6/2021 Flu B/Austria/1359417/2021 Flu B/Phuket/3073/2013	Détection
102019	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 1	SARS-CoV-2 isolat Australia/VIC01/2020	Détection
102024	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 2	SARS-CoV-2 isolat Wuhan-Hu-1	Détection
103907	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 14	Variant UK (B.1.1.7_710528)	Détection
103909	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 15	Variant UK (B.1.1.7_601443)	Détection
104043	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 16	Variant Afrique du Sud	Détection
104044	SARS-CoV-2	Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 17	Variant Japon/Brésil	Détection
0505-0129	SARS-CoV-2	Accuplex™ SARS- CoV-2 Verification Panel	S.O.	Détection
MBC139-R	SARS-CoV-2	AMPLIRUN® SARS- CoV-2 B.1.351 RNA CONTROL	Lignée B.1.351	Détection
MBTC030-R	SARS-CoV-2	AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2 CONTROL	Lignée B.1.351	Détection
MBTC031-R	SARS-CoV-2, Flu A, Flu B et RSV	AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV- 2/FLUA/FLUB/RSV CONTROL	Influenza A H3N2 (A/Perth/16/2009), Influenza B (B/Brisbane/60/2008), RSV (9320)	Détection
MBC144-R	MPV	AMPLIRUN® METAPNEUMOVIRUS RNA CONTROL	Lignée B1	Détection
SCV2_24C1B-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Delta variant	Variant Delta B.1.617.2	Détection
SCV2_23C1D-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée XBB	Détection
SCV2_23C1D-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BQ1.1	Détection
SCV2_23C1D-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BA.2.75	Détection
SCV2_23C1D-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BA.5	Détection
SCV2_23C1D-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BQ.1	Détection
SCV2_23C1B-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BA.4	Détection

SCV2_23C1B-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BA.5	Détection
SCV2_23C1B-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BA.4	Détection
SCV2_23C1B-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BA.2	Détection
SCV2_23C1C-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BA.2.75	Détection
SCV2_23C1C-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BQ.1	Détection
SCV2_23C1C-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BQ1.1	Détection
SCV2_23C1C-04	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée XBB	Détection
SCV2_23C1C-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BA.2	Détection
SCV2_23C1A-01	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BA.5	Détection
SCV2_23C1A-02	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BA.2	Détection
SCV2_23C1A-03	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BA.5	Détection
SCV2_23C1A-05	SARS-CoV-2	SARS-CoV-2 Omicron variant	Sous-lignée BA.4	Détection
ID3-09 2023	RSV	Influenza A virus	Souche A/Cambodia/e0826360/2020 (H3N2)	Détection
359043	RSV	Human Respiratory Syncytial Virus, B	S.O.	Détection
PINFRNA101S-06	Parainfluenza virus type 2	PIV-2	S.O.	Détection
PINFRNA22S-02	Parainfluenza virus type 3	PIV-3	S.O.	Détection
CVRNA22S-04	Coronavirus	Coronavirus HKU	Souche HKU	Détection
0810110CF	Adénovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 2	Type 2 (espèce C)	Détection
0810062CFHI	Adénovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 3	Type 3 (espèce B)	Détection
0810070CFHI	Adénovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 4	Type 4 (espèce E)	Détection
0810020CF	Adénovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 5	Type 5 (espèce C)	Détection

0810021CFHI	Adénovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 7A	Type 7A (espèce B)	Détection
0810119CFHI	Adénovirus	Adenovirus Culture Fluid (Heat Inactivated) Type 37	Type 37	Détection
0810084CFHI	Adénovirus	Adenovirus Type 40 Culture Fluid (Heat Inactivated) Strain Dugan	Type 40, souche Dugan	Détection
0810085CFHI	Adénovirus	Adenovirus Type 41 Culture Fluid (Heat Inactivated) Strain Tak	Type 41 (espèce F), souche Tak	Détection
0810159CF	MPV	Human Metapneumovirus 8	Type B2	Détection

Tableau 34. Matériel de contrôle pour SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV, parainfluenza, coronavirus, métapneumovirus et adénovirus.

Toutes les souches ont été correctement détectées dans le canal approprié et l'EIC a montré une amplification avec une valeur Ct ≤ 35.

7. Programmes d'évaluation externe de la qualité (EQA)

Au total, 85 échantillons contenant SARS-Cov-2, Influenza A, Influenza B, RSV, virus parainfluenza, coronavirus, métapneumovirus et/ou adénovirus, entre autres micro-organismes non cibles, ont été analysés à partir des programmes QCMD, INSTAND, CAP et RCPA, montrant une concordance élevée.

12.4.2. Précision

Pour déterminer la précision du VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System, intra-essai (répétabilité), inter-essai, ainsi que des tests inter-lots et inter-thermocycleur (reproductibilité) sont été effectués avec des écouvillons nasopharyngés prélevés avec le BD™ Universal Viral Transport System et enrichis avec les souches de référence mentionnées dans le Tableau 28 pour les cibles représentatives sélectionnées pour chaque canal de fluorescence : SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV B, virus parainfluenza type 3, coronavirus OC43, métapneumovirus et adénovirus.

Intra-essai

L'intra-essai a été réalisé en analysant six réplicats de tous les échantillons lors de la même exécution du programme en utilisant VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

<i>Respiratory Virus Mix I reaction tube</i>					
Cible	Échantillons	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	30,30	0,31	1,02
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,15	0,45	1,53
	Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	S.O.	S.O.
Influenza B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,98	0,53	1,62
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,32	0,52	1,68
	Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	S.O.	S.O.
Influenza A	2xLoD	585/630 (ROX)	33,45	1,35	4,03
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,37	0,67	2,15
	Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	S.O.	S.O.
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,18	1,49	4,64
	5xLoD	630/665 (CY5)	31,02	0,56	1,79
	Contrôle négatif	630/665 (CY5)	Nég	S.O.	S.O.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	26,17	0,38	1,46
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,97	0,50	1,93
	Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	26,37	0,91	3,46

Tableau 35. Résultats intra-essai de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cycle seuil. ($\bar{x}$) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, N/A = non applicable.

<i>Respiratory virus Mix II reaction tube</i>					
Cible	Échantillons	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Parainfluenza virus	2xLoD	475/520 (FAM)	32,13	0,56	1,76
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,97	1,16	3,88
	Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	S.O.	S.O.
Coronavirus	2xLoD	530/565 (HEX)	34,23	0,73	2,14
	5xLoD	530/565 (HEX)	32,03	0,85	2,65
	Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	S.O.	S.O.
Métagneumovirus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,53	0,66	2,09
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,63	0,77	2,61
	Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	S.O.	S.O.
Adénovirus	2xLoD	630/665 (CY5)	34,35	0,10	0,31
	5xLoD	630/665 (CY5)	33,55	1,39	4,15
	Contrôle négatif	630/665 (CY5)	Nég	S.O.	S.O.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,72	0,53	2,08
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,57	0,61	2,39
	Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	25,63	0,23	0,91

Tableau 36. Résultats intra-essai de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cycle seuil. ($\bar{x}$) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, N/A = non applicable.

Inter-essai

L'inter-essai a été réalisé en testant quatre réplicats d'échantillons différents sur trois jours différents par trois opérateurs différents avec VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube					
Cible	Échantillons	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	30,33	0,38	1,27
	5xLoD	475/520 (FAM)	28,93	0,28	0,97
	Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	S.O.	S.O.
Influenza B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,61	0,66	2,03
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,55	0,46	1,45
	Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	S.O.	S.O.
Influenza A	2xLoD	585/630 (ROX)	32,94	0,99	2,99
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,95	0,76	2,37
	Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	S.O.	S.O.
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,80	0,74	2,27
	5xLoD	630/665 (CY5)	31,67	0,53	1,68
	Contrôle négatif	630/665 (CY5)	Nég	S.O.	S.O.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,90	0,25	0,95
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,99	0,40	1,55
	Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	25,84	0,31	1,21

Tableau 37. Résultats inter-essai de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cycle seuil, ($\bar{x}$) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, N/A = non applicable.

<i>Respiratory virus Mix II</i> reaction tube					
Cible	Échantillons	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Parainfluenza virus	2xLoD	475/520 (FAM)	31,86	0,71	2,22
	5xLoD	475/520 (FAM)	30,18	0,82	2,72
	Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	S.O.	S.O.
Coronavirus	2xLoD	530/565 (HEX)	33,45	0,76	2,27
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,56	0,96	3,04
	Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	S.O.	S.O.
Métagpneumovirus	2xLoD	585/630 (ROX)	30,79	0,93	3,01
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,68	0,88	2,97
	Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	S.O.	S.O.
Adénovirus	2xLoD	630/665 (CY5)	35,08	1,62	4,61
	5xLoD	630/665 (CY5)	33,20	0,77	2,33
	Contrôle négatif	630/665 (CY5)	Nég	S.O.	S.O.

EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,49	0,31	1,21
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,65	0,33	1,30
	Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	25,52	0,31	1,21

Tableau 38. Résultats inter-essai de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cycle seuil. ($\bar{x}$) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, N/A = non applicable.

Inter-lots

Les valeurs inter-lots ont été déterminées avec six répliquats de différents échantillons en utilisant trois lots de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Respiratory Virus Mix I reaction tube					
Cible	Échantillons	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	29,07	0,45	1,53
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,14	0,59	2,01
	Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	S.O.	S.O.
Influenza B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,58	0,64	1,95
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,01	1,03	3,31
	Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	S.O.	S.O.
Influenza A	2xLoD	585/630 (ROX)	32,75	1,7	5,33
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,61	1,14	3,62
	Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	S.O.	S.O.
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	31,72	1,90	5,99
	5xLoD	630/665 (CY5)	30,21	1,35	4,46
	Contrôle négatif	630/665 (CY5)	Nég	S.O.	S.O.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,40	0,31	1,23
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,61	0,53	2,06
	Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	25,54	0,37	1,45

Tableau 39. Résultats inter-lots de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cycle seuil. ($\bar{x}$) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, N/A = non applicable.

Respiratory virus Mix II reaction tube					
Cible	Échantillons	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Parainfluenza virus	2xLoD	475/520 (FAM)	31,45	1,20	3,82
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,53	0,59	1,99
	Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	S.O.	S.O.
Coronavirus	2xLoD	530/565 (HEX)	32,35	0,71	2,20
	5xLoD	530/565 (HEX)	30,18	1,33	4,39
	Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	S.O.	S.O.

Métapneumovirus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,66	1,00	3,16
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,16	1,25	4,29
	Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	S.O.	S.O.
Adénovirus	2xLoD	630/665 (CY5)	33,23	0,70	2,12
	5xLoD	630/665 (CY5)	32,83	1,06	3,23
	Contrôle négatif	630/665 (CY5)	Nég	S.O.	S.O.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	24,82	0,43	1,73
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,57	0,42	1,64
	Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	25,03	0,36	1,43

Tableau 40. Résultats inter-lots de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cycle seuil. ($\bar{x}$) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, N/A = non applicable.

Inter-thermocycleur

Les valeurs inter-thermocycleur ont été déterminées avec six réplicats des mêmes échantillons utilisés pour l'intra-essai, l'inter-essai et l'inter-lots, en utilisant VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Ces tests ont été réalisés sur deux sites de laboratoire avec deux BD MAX™ System différents. Un résumé des résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

Respiratory Virus Mix / reaction tube					
Cible	Échantillons	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
SARS-CoV-2	2xLoD	475/520 (FAM)	30,30	0,29	0,96
	5xLoD	475/520 (FAM)	28,93	0,24	0,82
	Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	S.O.	S.O.
Influenza B	2xLoD	530/565 (HEX)	32,70	0,42	1,29
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,26	0,45	1,43
	Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	S.O.	S.O.
Influenza A	2xLoD	585/630 (ROX)	33,33	1,47	4,42
	5xLoD	585/630 (ROX)	31,52	0,61	1,92
	Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	S.O.	S.O.
RSV	2xLoD	630/665 (CY5)	32,80	0,76	2,33
	5xLoD	630/665 (CY5)	30,88	1,30	4,20
	Contrôle négatif	630/665 (CY5)	Nég	S.O.	S.O.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	35,97	0,32	1,24
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,71	0,33	1,28
	Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	25,96	0,37	1,44

Tableau 41. Résultats inter-thermocycleur de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cycle seuil. ($\bar{x}$) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, N/A = non applicable.

<i>Respiratory virus Mix II reaction tube</i>					
Cible	Échantillons	Canal	Ct ($\bar{x}$)	σ	CV %
Parainfluenza virus	2xLoD	475/520 (FAM)	31,95	0,83	2,61
	5xLoD	475/520 (FAM)	29,79	0,95	3,18
	Contrôle négatif	475/520 (FAM)	Nég	S.O.	S.O.
Coronavirus	2xLoD	530/565 (HEX)	34,26	0,74	2,15
	5xLoD	530/565 (HEX)	31,95	0,61	1,91
	Contrôle négatif	530/565 (HEX)	Nég	S.O.	S.O.
Métagpneumovirus	2xLoD	585/630 (ROX)	31,59	0,50	1,58
	5xLoD	585/630 (ROX)	29,51	1,03	3,48
	Contrôle négatif	585/630 (ROX)	Nég	S.O.	S.O.
Adénovirus	2xLoD	630/665 (CY5)	34,14	0,72	2,12
	5xLoD	630/665 (CY5)	32,31	0,36	1,13
	Contrôle négatif	630/665 (CY5)	Nég	S.O.	S.O.
EIC	2xLoD	680/715 (CY5.5)	25,35	0,22	0,85
	5xLoD	680/715 (CY5.5)	25,10	0,22	0,87
	Contrôle négatif	680/715 (CY5.5)	25,73	0,28	1,11

Tableau 42. Résultats inter-thermocycleur de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. (Ct) = cycle seuil, ($\bar{x}$) = valeur Ct moyenne arithmétique, (σ) = écart type, (CV %) = coefficient de variation, Nég = négatif, N/A = non applicable.

En conclusion, l'étude de précision a confirmé les performances fiables et l'homogénéité du VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

12.5. Contamination croisée (Carry-over)

La fiabilité (paramètre de contamination croisée) a été analysée conformément aux spécifications communes pour certains dispositifs de DIV de classe D conformément au règlement (UE) 2017/746 ; en particulier l'annexe XIII, qui établit les spécifications communes pour les dispositifs destinés à la détection ou à la quantification des marqueurs de l'infection par le virus SARS-CoV-2. Ces recommandations ne s'appliquaient qu'à la cible du virus SARS-CoV-2, les autres cibles du *Respiratory Virus Mix I* reaction tube n'ont pas été analysées dans ce test. Cependant, le virus parainfluenza type 3 a également été analysé comme cible du *Respiratory Virus Mix II* reaction tube pour effectuer le test avec les deux Master Mixes.

Le taux de contamination croisée a été déterminé en testant 60 répliquats d'échantillons nasopharyngés négatifs, ainsi que 60 répliquats d'un échantillon de RNA de SARS-CoV-2 positif contenant un titre élevé de RNA viral de SARS-CoV-2 (Premier étalon international de l'OMS pour le RNA du SARS-CoV-2, code NIBSC : 20/146, à 1E+02 UI/mL) et un échantillon de RNA du virus parainfluenza humain de type 3 positif contenant un titre élevé de RNA viral de HPIV-3 (Virus parainfluenza humain de type 3, code ATCC : VR-93™, à 1E+05 TCID50/mL). Au total, cinq analyses d'échantillons positifs et négatifs ont été effectuées à l'aide d'une méthode d'analyse reposant sur une disposition en damier, permettant d'alterner l'agencement des échantillons.

Pour le *Respiratory Virus Mix I* reaction tube, 60 échantillons positifs sur 60 ont été correctement détectés, et 59 échantillons négatifs sur 60 ont donné un résultat négatif, soit un taux de concordance de 98,33 %. Pour le *Respiratory Virus Mix II* reaction tube, tous les échantillons positifs ont été correctement détectés et tous les échantillons négatifs ont donné un résultat négatif. Les résultats des deux tubes réactionnels montre que le taux de contamination croisée était presque 0%.

12.6. Taux de défaillance du système complet

La fiabilité (paramètre du taux de défaillance du système complet) a été analysée conformément aux indications-des spécifications communes pour les dispositifs destinés à la détection ou à la quantification des marqueurs de l'infection par le virus SARS-CoV-2. Puisque ces recommandations ne s'appliquaient qu'à la cible du virus SARS-CoV-2, les autres cibles n'ont pas été analysées dans ce test.

Pour démontrer que le *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System permet de détecter les échantillons à faible positivité pour le RNA de SARS-CoV-2, 119 échantillons d'écouvillons nasopharyngés négatifs, enrichis avec le First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA (code NIBSC : 20/146) à une concentration virale équivalente à trois fois la LoD (3xLoD), ont été testés avec le test VIASURE.

Les résultats de l'étude indiquent que l'ensemble des réplicats étaient réactifs vis-à-vis de la cible RNA du SARS-CoV-2, ce qui correspond à un taux de concordance de 100 %. En conclusion, le taux de défaillance du système complet est de 0 %.

12.7. Spécificité analytique et réactivité

La spécificité et la réactivité analytiques ont été évaluées pour le *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System *in silico* et de manière expérimentale au moyen de différents matériaux de départ, tels que des souches de référence certifiées, des RNA/DNA de référence certifiés et du matériel provenant des programmes EQA.

12.7.1. Spécificité analytique

La spécificité analytique est la capacité du test à détecter la cible prévue. Il existe deux composantes à prendre en compte pour la spécificité analytique : la réactivité croisée et l'interférence. La réactivité croisée peut survenir lorsque des séquences génétiquement apparentées sont présentes dans un échantillon de patient, tandis que l'interférence peut survenir si la présence potentielle de substances spécifiques dans les matrices d'échantillons affecte les performances du RT-qPCR.

Analyse de la réactivité croisée *in silico*

La réactivité croisée a été évaluée en utilisant les séquences de référence des agents pathogènes de la NCBI Genbank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) et un logiciel d'analyse bio-informatique interne. Une analyse BLAST de chaque amorce et sonde sur la base de données de nucléotides de la NCBI Genbank ainsi qu'une analyse bio-informatique interne ont été réalisées.

Les séquences alignées présentant un score d'alignement inférieur à 80 % d'homologie ont été jugées peu susceptibles d'être détectées. Les résultats obtenus ont démontré que **toutes les séquences analysées présentaient une homologie inférieure à 80 % avec les ensembles d'amorces et de sondes de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B et RSV (types A et B) inclus dans le *Respiratory Virus Mix I* reaction tube ; les ensembles d'amorces et de sondes de parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4), coronavirus humains (229E, NL63 et HKU1), métapneumovirus et adénovirus inclus dans le *Respiratory Virus Mix II* reaction tube.**

Pour le coronavirus OC43, les résultats suivants ont été obtenus :

Coronavirus OC43

L'analyse BLAST filtrée par coronavirus OC43 (à l'exclusion de l'ID de taxonomie OC43 : 31631) montre une homologie élevée entre les amorces et les sondes et le bêtacoronavirus 1 provenant de souches de bovins, buffles, oryx, girafes, chameaux, canins, équins, porcins, lapins, antilopes Sable, cerfs Sambar, tapirs, cerfs d'eau, cobes, Watusi, cerfs de Virginie, yaks. Cependant, ces virus n'ont pas été identifiés chez l'homme et ne sont pas considérés comme des virus zoonotiques pour le moment, ils n'interfèrent donc pas dans la détection du coronavirus OC43.

Par conséquent, aucune des séquences analysées, y compris celles présentant une homologie supérieure à 80 %, ne peut affecter la détection correcte du coronavirus OC43.

En conclusion, les cibles de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (types A et B), parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4), coronavirus humains (229E, NL63, HKU1 et OC43), métapneumovirus et adénovirus de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ne devraient pas provoquer de faux positifs dans la détection de ces micro-organismes lorsque d'autres organismes sont présents.

Spécificité analytique, test expérimental

Réactivité croisée, test expérimental

La réactivité croisée du VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a été confirmée en testant un panel de différents microorganismes associés aux infections respiratoires, enrichis dans des écouvillons nasopharyngés prélevés avec le BD™ Universal Viral Transport System. Lorsque cela était possible et lorsque les données de concentration étaient disponibles, les virus et

les bactéries interférents ont été évalués à des niveaux pertinents sur le plan médical (généralement 1E+05 - 1E+06 cfu (unités formant une colonie, pour *colony-forming unit*)/mL pour les bactéries et 1E+04 - 1E+05 pfu (unités formant une plaque, pour *plaque-forming unit*)/mL pour les virus). Aucune réactivité croisée n'a été détectée entre l'un quelconque des microorganismes testés suivants, à l'exception des micro-organismes cibles.

Test de réactivité croisée					
Adenovirus Type 15 (espèce D), souche 35 [955, CH.38]	+/-	Influenza A virus A/Cambodia/e0826360/2020 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Adenovirus Type 2, espèce C	+/-	Influenza A Virus A/Hawaii/31/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Adenovirus Type 3, espèce B	+/-	Influenza A Virus A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09	+/-	SARS-CoV-2 B.1.1.7_601443, UK variant	+/-
Adenovirus Type 31 (Espèce A) Souche 1315/63	+/-	Influenza A Virus A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09	+/-	SARS-CoV-2 B.1.1.7_710528, UK variant	+/-
Adenovirus Type 37	+/-	Influenza A Virus A/Qatar/1123/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2 B.1.351	+/-
Adenovirus Type 4, espèce E	+/-	Influenza A Virus A/South Dakota/6/2007 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2 Coronavirus 2 souche 2019-nCoV/USA-WA1/2020	+/-
Adenovirus Type 40, souche Dugan	+/-	Influenza A Virus A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1)	+/-	SARS-CoV-2 Delta variant B.1.617.2	+/-
Adenovirus Type 41 (Espèce F), souche Tak	+/-	Influenza A Virus A/Taiwan/760/2007 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2 Omicron variant, sous-lignée BA.2	+/-
Adenovirus Type 5, espèce C	+/-	Influenza A Virus A/Texas/71/2007 (H3N2)	+/-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée BA.2	+/-
Adenovirus Type 6 (Espèce C), souche Tonsil 99	+/-	Influenza B Virus B/Bangladesh/3333/2007 (Yamagata Lineage)	+/-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée BA.2	+/-
Adenovirus Type 7A, espèce B	+/-	Influenza B Virus B/Brisbane/3/2007 (Yamagata Lineage)	+/-	SARS-CoV-2 Omicron variant, sous-lignée BA.2.75	+/-
Adenovirus Human Adenovirus DNA Type 2	+/-	Influenza B Virus B/Pennsylvania/5/2007 (Victoria Lineage)	+/-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée BA.2.75	+/-
<i>Bordetella holmesii</i>	-	Influenza B Virus B/Pennsylvania/7/2007 (Yamagata Lineage)	+/-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée BA.4	+/-
<i>Bordetella parapertussis</i>	-	Influenza B Virus B/Santiago/4364/2007 (Yamagata Lineage)	+/-	SARS-CoV-2 Omicron variant, sous-lignée BA.4	+/-
<i>Bordetella pertussis</i>	-	Influenza B Virus B/Victoria/304/2006 (Victoria Lineage)	+/-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée BA.4	+/-
<i>Bordetella pertussis</i> Type souche	-	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>Pneumoniae</i> Souche PCI 602	-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée BA.5	+/-
<i>Candida albicans</i>	-	<i>Legionella Pneumophila</i> Sg1 (ST47)	-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée BA.5	+/-
<i>Chlamydomydia pneumoniae</i> Souche CM-1	-	<i>Legionella pneumophila</i> Sg1 (ST62)	-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée BA.5	+/-
Coronavirus HKU	+/-	<i>Legionella pneumophila</i> subsp. <i>Pneumophila</i> Souche Philadelphia-1	-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée BA.5	+/-
Coronavirus souche NL63	+/-	MERS-CoV Souche Florida/USA-2_Saudi Arabia_2014	-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée BQ.1	+/-
Entérovirus D58 US/MO/14-18949	-	<i>Moraxella catarrhalis</i> souche 59632	-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée BQ.1	+/-
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	-	SARS-CoV-2 Omicron variant, sous-lignée BQ1.1	+/-
<i>Haemophilus influenzae</i>	-	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> Souche PI 1428	-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée BQ1.1	+/-

Test de réactivité croisée					
Haemophilus influenzae Souche L-378	-	Parainfluenza virus type 2	+/-	SARS-CoV-2 Omicron variant, sous-lignée XBB	+/-
Human rinovirus 17 Souche 33342	-	Parainfluenza virus type 3	- +/-	SARS-CoV-2 Omicron Variant, sous-lignée XBB	+/-
Influenza A Virus A/Brisbane/10/2007 (H3N2)	+/-	<i>Pneumocystis jirovecii</i>	-	SARS-CoV-2 SARS-CoV-2 isolate Australia/VIC01/2020	+/-
Influenza A Virus A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2)	+/-	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Souche RH 815	-	SARS-CoV-2 SARS-CoV-2 isolate Wuhan-Hu-1	+/-
Influenza A Virus A/Brisbane/59/2007 (H1N1)	+/-	RSV A 2000/3-4	+/-	SARS-CoV-2	+/-
Influenza A Virus A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1)	+/-	RSV Souche A-2	+/-	<i>Staphylococcus epidermis</i> Souche PCI 1200	-
Influenza A Virus A/California/07/2009 (H1N1)pdm09	+/-	RSV Type B	+/-	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	-
Influenza A Virus A/California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09	+/-	SARS-CoV-1 Souche Frankfurt 1	+/-	<i>Streptococcus pneumoniae</i> Souche [CIP 104225]	-
Influenza A Virus A/Cambodia/0371/2007 (H1N1)	+/-				

Tableau 43. Microorganismes pathogènes de référence inclus dans le test de réactivité croisée. Le résultat + ou - fait référence au résultat positif ou négatif obtenu dans les différents canaux en fonction de la cible détectée. Dans le cas où un micro-organisme testé est l'une des cibles détectées par le dispositif, un résultat positif est obtenu dans le canal correspondant, mais un résultat négatif est obtenu dans les autres canaux.

En conclusion, les résultats des tests de réactivité croisée indiquent une spécificité élevée du VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pour la détection des micro-organismes cibles, ce qui permet de réduire le risque de faux positifs. Puisqu'aucune amplification non spécifique n'a été observée avec d'autres micro-organismes apparentés, on peut suggérer que le dispositif est capable d'identifier avec précision les virus cibles.

Étude de la co-infection

Une étude de la co-infection a été réalisée en utilisant les souches de référence présentées en détail dans le Tableau 28 pour les cibles représentatives sélectionnées pour chaque canal de fluorescence : SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV B, virus parainfluenza type 3, coronavirus OC43, métagpneumovirus et adénovirus ; à différentes concentrations, pour confirmer que la présence de l'un d'entre eux, indépendamment de la concentration, n'altère pas la détection entre eux. Neuf échantillons nasopharyngés enrichis avec le matériel de référence, une cible à faible concentration (3xLoD) et les autres cibles à une très forte concentration, généralement 1E+04 – 1E+05 unités/mL, si possible, ont été analysés.

Les résultats confirment que la détection des micro-organismes cibles n'est pas altérée lorsqu'elle est analysée avec le VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System en cas de co-infection à différentes concentrations.

Étude des agents microbiens interférents

Une étude sur les agents microbiens interférents a été réalisée pour analyser les agents microbiens interférents potentiels pour VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Un panel de différents microorganismes associés aux maladies respiratoires a été testé en présence de virus SARS-CoV-2, Influenza A et B, RSV B, virus parainfluenza type 3, coronavirus OC43, métapneumovirus et adénovirus (souches de référence présentées en détail dans le Tableau 28) à 3xLoD. Lorsque cela était possible et lorsque les données de concentration étaient disponibles, les virus et les bactéries interférents ont été évalués à des niveaux pertinents sur le plan médical (généralement 1E+05 - 1E+06 CFU (unités formant une colonie, pour *colony-forming unit*)/mL pour les bactéries et 1E+04 - 1E+05 PFU (unités formant une plaque, pour *plaque-forming unit*)/mL pour les virus). Chaque analyse de point a été réalisée deux fois par échantillon.

Le contrôle matrice positive (Positive Matrix Control, PMC) et le contrôle matrice négative (Negative Matrix Control, NMC) sont inclus comme contrôles du test. Le PMC correspond à la matrice nasopharyngée négative enrichie avec des souches spécifiques sans aucun agent microbien interférent, tandis que le NMC correspond à la matrice nasopharyngée négative sans aucun agent microbien interférent.

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube et <i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube		
Nom du microorganisme	Concentration testée	Résultat
PMC	S.O.	N.I
NMC	S.O.	N.I
Rhinovirus humain 17	1,60E+04 TCID50/mL	N.I
Entérovirus D58	4,00E+04 TCID50/mL	N.I
MERS-CoV	3,55E+03 TCID50/mL	N.I
<i>Chlamydomydia pneumoniae</i>	3,16E+04 TCID50/mL	N.I
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,80E+03 CFU/μL	N.I
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+05 CFU/mL	N.I
<i>Candida albicans</i>	4,18E+06 CFU/mL	N.I
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3,60E+06 CFU/mL	N.I
SARS-CoV 1	5,20E+02 cop/mL	N.I
<i>Bordetella pertussis</i>	1,20E+05 CFU/mL	N.I
<i>Bordetella holmesii</i>	4,10E+04 CFU/mL	N.I
<i>Bordetella parapertussis</i>	1,20E+05 CFU/mL	N.I
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3,65E+04 CFU/μL	N.I
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1,00E+06 CFU/mL	N.I
<i>Legionella pneumophila subsp. pneumophila</i>	5,60E+04 CFU/μL	N.I
<i>Haemophilus influenzae</i>	5,20E+03 CFU/μL	N.I
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4,90E+06 CFU/mL	N.I
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	1,00E+03 cop/μl	N.I

Tableau 44. Test des agents microbiens interférents. N.I. = aucune interférence.

En conclusion, aucune interférence n'a été observée dans la détection de l'acide nucléique cible avec l'un des micro-organismes testés.

Étude des substances interférentes

Une étude des substances interférentes a été réalisée pour tester l'effet d'interférence potentiel des substances endogènes et exogènes sur VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Au total, vingt substances potentiellement interférentes ont été ajoutées à la matrice nasopharyngée négative enrichie avec les souches de référence présentées en détail dans le Tableau 28 pour SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV B, virus parainfluenza type 3, coronavirus OC43, métapneumovirus et adénovirus et évaluées avec six réplicats.

Le contrôle matrice positive (Positive Matrix Control, PMC) et le contrôle matrice négative (Negative Matrix Control, NMC) sont inclus comme contrôles du test. Le PMC correspond à la matrice nasopharyngée négative enrichie avec des souches cibles spécifiques sans substance interférente, tandis que le NMC correspond à la matrice nasopharyngée négative sans substance interférente ni micro-organismes/matériel de référence ajoutés. Les résultats suivants ont été obtenus :

<i>Respiratory Virus Mix I</i> reaction tube et <i>Respiratory Virus Mix II</i> reaction tube		
Nom de la substance	Concentration testée	Résultat
PMC	S.O.	N.I.
NMC	S.O.	N.I.
Oseltamivir	3,99E-04 mg/mL	N.I.
Zanamivir	3,30 mg/mL	N.I.
Azithromycine	1,10E-02 mg/mL	N.I.
Mupirocine	1,50E-03 mg/mL	N.I.
Tobramycine	3,30E-02 mg/mL	N.I.
Albumine	1,00E+01 mg/mL	N.I.
DNA génomique	3,50E-03 mg/mL	N.I.
Mucus humain	1,00 % (v/v)	N.I.
Mucine	2,50E+00 mg/mL	N.I.
Triglycérides	1,50E+01 mg/mL	N.I.
Sang total	1,00 % (v/v)	N.I.
Carbocystéine	5,00E+00 mg/mL	N.I.
N-acétylcystéine	1,50E-01 mg/mL	N.I.
Phényléphrine	3,00E-05 mg/mL	N.I.
Fluticasone	1,26E-06 mg/mL	I
	3,15E-07 mg/mL	N.I.
Galphimia glauca, luffa operculata	1,25E+01 mg/mL	N.I.
Chlorhydrate d'oxymétazoline	1,00E-01 mg/mL	N.I.
Chlorure de sodium	9,00E-01 mg/mL	N.I.
Nicotine	3,00E-02 mg/mL	I
	7,50E-04 mg/mL	N.I.
Benzocaïne	3,00E+00 mg/mL	N.I.

Tableau 45. Substances potentiellement interférentes. N.I : Aucune interférence à signaler ; I : Interférence.

Différentes substances potentiellement interférentes, endogènes et exogènes, ont été testées avec le VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System. Une interférence a été observée lors des tests de fluticasone (1,26E-06 mg/mL) et de nicotine (3,00E-02 mg/mL) dans le *Respiratory Virus Mix I* reaction tube et le *Respiratory Virus Mix II* reaction tube et une dilution 1/4 a été effectuée pour évaluer l'absence d'effet d'interférence à des concentrations plus faibles. Les résultats obtenus permettent de conclure que, aux concentrations finales testées, aucune interférence des substances évaluées n'est observée aux concentrations testées.

12.7.2. Réactivité analytique

La réactivité analytique peut être définie comme le pourcentage de souches microbiennes cibles ou d'échantillons du DNA/RNA qui donnent le résultat positif correct. La réactivité analytique a été étudiée *in silico* et par des analyses expérimentales.

Analyse *in silico* de la réactivité analytique

La réactivité analytique du VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a été évaluée en utilisant la base de données de séquences nucléotidiques publique NCBI GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), Global Initiative on Sharing All SARS-CoV-2 Data (GISAID EpiCoV database (<https://www.gisaid.org/>)), Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID EpiFlu database (<https://www.gisaid.org/>)), Global Initiative on Sharing All RSV Data (GISAID EpiRSV database (<https://www.gisaid.org/>)), et un logiciel d'analyse bio-informatique interne, afin de démontrer que les gènes cibles peuvent être correctement détectés par le dispositif à l'étude. L'analyse *in silico* des amorces et des sondes a été réalisée par alignement avec les séquences disponibles dans la collection de base de données de nucléotides. Les résultats obtenus après l'analyse des séquences incluses sont présentés dans le tableau suivant :

Microorganisme	Gène	% de séquences détectées expérimentalement sans mésappariements	% de séquences détectées expérimentalement avec mésappariements	Nombre de séquences alignées
SARS-CoV-2	Gène <i>N</i> , région N1 et région N2	98,08 %	-	22 404
Influenza A	Gènes <i>HA + M1</i>	0,88 %	32,92 %	99 326
Influenza B	Gène <i>M1</i>	21,63 %	70,58 %	24 369
RSV A	Gène <i>N</i>	2,32 %	80,83 %	4 002
RSV B	Gène <i>N</i>	2,61 %	80,11 %	4 172
Parainfluenza 1 Parainfluenza 2 Parainfluenza 3 Parainfluenza 4	Gène <i>HN</i> Gène <i>HN</i> Gène <i>HN</i> Gène <i>F</i>	19,23 %	-	1451
Coronavirus OC43	Gène <i>N</i>	76,32 %	-	380
Coronavirus 229E	Gène <i>N</i>	0,00 %*	-	266

Coronavirus NL63	Gène <i>N</i>	48,12 %	-	293
Coronavirus HKU1	Gène <i>N</i>	46,51 %	-	215
Métapneumovirus	Gène <i>F</i>	93,7 %	-	2 144
Adénovirus A	Gène <i>Hexon</i>	98,7 %	-	154
Adénovirus B	Gène <i>Hexon</i>	98,75 %	-	718
Adénovirus C	Gène <i>Hexon</i>	96,17 %	-	392
Adénovirus D	Gène <i>Hexon</i>	97,74 %	-	310
Adénovirus E	Gène <i>Hexon</i>	89,53 %	-	172
Adénovirus F	Gène <i>Hexon</i>	96,40 %	-	250
Adénovirus G	Gène <i>Hexon</i>	90,48%	-	21

Tableau 46. Test *in silico* de la réactivité analytique.

* La plupart des séquences de coronavirus 229E provenant de la NCBI Genbank incluses dans l'analyse *in silico* présentent 1 ou 2 mésappariements qui n'affectent pas l'exactitude de la détection de la cible. En outre, le DNA synthétique de coronavirus 229E utilisé lors de la validation analytique du produit présente une homologie de 100 % avec l'ensemble des amorces et des sondes, démontrant ainsi expérimentalement l'exactitude de sa détection.

En conclusion, l'analyse de l'inclusivité a montré une détection correcte de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (types A et B), parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4), coronavirus (NL63, 229E, HKU1 et OC43), métapneumovirus et adénovirus en utilisant VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Réactivité analytique, test expérimental

La réactivité analytique du VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pour SARS-CoV-2 a été évaluée par rapport au RNA des souches suivantes, enrichies dans des écouillons nasopharyngés prélevés avec le BD™ Universal Viral Transport System, et a montré des résultats positifs :

SARS-Related Coronavirus 2, isolat USA-WA1/2020, Gamma-Irradiated (NR-52287), Quantitative Synthetic SARS-CoV-2 RNA : ORF, E, N (VR-3276SD), Genomic RNA from 2019 Novel Coronavirus (VR-1986D), 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) Working Reagent for Nucleic Acid Amplification Testing (NAT) (NIBSC 20/110), Research Reagent for SARS-CoV-2 RNA (NIBSC 19/304), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 1 (MT007544.1) : SARS-CoV-2 isolat Australia/VIC01/2020 (Twist Bioscience 102019), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 2 (MN908947.3) : SARS-CoV-2 isolat Wuhan-Hu-1 (Twist Bioscience 102024), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 14 (B.1.1.7_710528), Variant UK (Twist Bioscience 103907), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 15 (B.1.1.7_601443), Variant UK (Twist Bioscience 103909), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 16 (EPI_ISL_678597), Variant Afrique du Sud (Twist Bioscience 104043), Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control 17 (EPI_ISL_792683), Variant Japon/Brésil (Twist Bioscience 104044), Accuplex™ SARS-CoV-2 Verification Panel (SeraCare c0505-0129), AMPLIRUN® SARS-CoV-2 B.1.351 RNA CONTROL (MBC139-R), AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2 CONTROL (SWAB) (MBTC030-R), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R), SARS-CoV-2 Variant Omicron , sous-lignée BA.5 (SCV2_23C1A-01), SARS-CoV-2 Variant Omicron, sous-lignée BA.2 (SCV2_23C1A-02), SARS-CoV-2 Variant Omicron, sous-lignée BA.5 (SCV2_23C1A-03), SARS-CoV-2 Variant Omicron, sous-

lignée BA.4 (SCV2_23C1A-05), SARS-CoV-2 Variant Omicron, sous-lignée BA.4 (SCV2_23C1B-01), SARS-CoV-2 Variant Omicron, sous-lignée BA.5 (SCV2_23C1B-03), SARS-CoV-2 Variant omicron, sous-lignée BA.4 (SCV2_23C1B-04), SARS-CoV-2 Variant Omicron, sous-lignée BA.2 (SCV2_23C1B-05), SARS-CoV-2 Variant Delta B.1.617.2 (SCV2_24C1B-01), SARS-CoV-2 Variant Omicron, sous-lignée BA.2.75 (SCV2_23C1C-01), SARS-CoV-2 Variant Omicron, sous-lignée BQ.1 (SCV2_23C1C-02), SARS-CoV-2 Variant Omicron, sous-lignée BQ1.1 (SCV2_23C1C-03), SARS-CoV-2 Variant Omicron, sous-lignée XBB (SCV2_23C1C-04), SARS-CoV-2 Variant Omicron, sous-lignée BA.2 (SCV2_23C1C-05), SARS-CoV-2 Variant omicron, sous-lignée XBB (SCV2_23C1D-01), SARS-CoV-2 Variant omicron, sous-lignée BQ1.1 (SCV2_23C1D-02), SARS-CoV-2 Variant omicron, sous-lignée BA.2.75 (SCV2_23C1D-03), SARS-CoV-2 Variant Omicron, sous-lignée BQ.1 (SCV2_23C1D-04) et SARS-CoV-2 Variant omicron, sous-lignée BA.5 (SCV2_23C1D-05).

La réactivité analytique de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pour le virus influenza A a été évaluée par rapport au RNA des souches suivantes, avec les résultats positifs suivants :

Influenza A Virus, A/Brisbane/59/2007 (H1N1) (FR-1), Influenza A Virus, A/South Dakota/6/2007 (H1N1) (FR-3), Influenza A Virus, A/Hawaii/31/2007 (H1N1) (FR-5), Influenza A Virus, A/Qatar/1123/2007 (H1N1) (FR-6), Influenza A Virus, A/Cambodia/0371/2007 (H1N1) (FR-7), Influenza A Virus, A/Brisbane/10/2007 (H3N2) (FR-8), Influenza A Virus, A/Taiwan/760/2007 (H3N2) (FR-12), Influenza A Virus, A/Texas/71/2007 (H3N2) (FR-13), Influenza A Virus, A/Brisbane/10/2007 IVR-147 (H3N2) (FR-27), Influenza A Virus, A/Brisbane/59/2007 IVR-148 (H1N1) (FR-28), Influenza A Virus, A/South Dakota/6/2007 X-173 (H1N1) (FR-29), Influenza A Virus, A/California/07/2009 (H1N1)pdm09 (FR-201), Influenza A Virus, A/California/08/2009 (H1N1)pdm09 (FR-202), Influenza A Virus, A/New York/18/2009 (H1N1)pdm09 (FR-203), Influenza A Virus, A/Mexico/4108/2009 (H1N1)pdm09 (FR-245), Influenza A Virus, A/California/07/2009 NYMC X-179A (H1N1)pdm09 (FR-246), Influenza A/Victoria/2570/2019 (H1N1) et/ou Influenza A/Darwin/6/2021 (H3N2) (Vaccine Fluarix Tetra 2022/2023), Influenza A/Victoria/4897/2022 (H1N1) et/ou Influenza A/Darwin/6/2021 (H3N2) (Vaccine Fluarix Tetra 2023/2024), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (Viracell MBTC031-R) et Influenza A Virus, H3/H2N2 (CAP ID3-09 2023).

La réactivité analytique de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pour le virus influenza B a été évaluée par rapport au RNA des souches suivantes, avec les résultats positifs suivants :

Influenza B Virus, B/Pennsylvania/7/2007 (Lignée Yamagata) (FR-16), Influenza B Virus, B/Santiago/4364/2007 (Lignée Yamagata) (FR-17), Influenza B Virus, B/Brisbane/3/2007 (Lignée Yamagata) (FR-18), Influenza B Virus, B/Pennsylvania/5/2007 (Lignée Victoria) (FR-19), Influenza B Virus, B/Victoria/304/2006 (Lignée Victoria) (FR-20), Influenza B Virus, B/Bangladesh/3333/2007 (Lignée Yamagata) (FR-183), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R), Influenza

B/Austria/1359417/2021 et/ou Influenza B/Phuket/3073/2013 (Vaccine Fluarix Tetra 2022/2023), Influenza B/Austria/1359417/2021 et/ou Influenza B/Phuket/3073/2013 (Vaccine Fluarix Tetra 2023/2024).

La réactivité analytique du *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pour RSV a été évaluée par rapport au RNA du virus respiratoire syncytial humain A (souche A-2) (FR-294), du virus respiratoire syncytial humain, A 2000/3-4 (NR-28530), AMPLIRUN TOTAL SARS-CoV-2-FluA-FluB-RSV CONTROL (MBTC031-R), et du virus respiratoire syncytial humain, B (INSTAND 359043), et a montré des résultats positifs.

La réactivité analytique du *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pour parainfluenza a été évaluée par rapport au RNA du virus parainfluenza sérotype 1 (NIBSC 08/176), du virus parainfluenza sérotype 2 (NIBSC 08/178), du virus parainfluenza sérotype 4 (NIBSC 08/180), du virus parainfluenza 2 (PINFRNA101S-06) et du virus parainfluenza 3 (PINFRNA22S-02), et a montré des résultats positifs.

La réactivité analytique du *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pour coronavirus a été évaluée par rapport au RNA de coronavirus humain synthétique quantitatif souche NL63 (VR-3263SD) et de coronavirus HKU (CVRNA22S-04), et a montré des résultats positifs.

La réactivité analytique du *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pour métapneumovirus a été évaluée par rapport au RNA de AMPLIRUN® METAPNEUMOVIRUS RNA CONTROL (MBC144-R), du métapneumovirus humain (NIBSC 08/320) et du Quantitative Synthetic Human metapneumovirus hMPV RNA (VR-3250SD)), et a montré des résultats positifs.

La réactivité analytique de *VIASURE Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System pour l'adénovirus a été évaluée par rapport au DNA des souches suivantes, avec les résultats positifs suivants :

Adénovirus Type 2, espèce C (0810110CF), Adénovirus Type 3, espèce B (0810062CFHI), Adénovirus Type 4, espèce E (0810070CFHI), Adénovirus Type 5, espèce C (0810020CF), Adénovirus Type 6 (Espèce C), souche Tonsil 99 (VR-6), Adénovirus Type 7A, espèce B (0810021CFHI), Adénovirus Type 15 (Espèce D), souche 35 [955, CH.38] (VR-16), Adénovirus Type 31 (Espèce A) souche 1315/63 (VR-3343), Adénovirus Type 37 (0810119CFHI), Adénovirus Type 40, souche Dugan (0810084CFHI), Adénovirus Type 41 (Espèce F), souche Tak (0810085CFHI) et First WHO International Standard for Human Adenovirus DNA (NIBSC code : (16/324)

12.8. Traçabilité métrologique

Ce test n'est pas conçu à des fins de mesure.

13. Caractéristiques des performances cliniques

La performance clinique de VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System a été testée sur des écouvillons nasopharyngés prélevés par le personnel infirmier avec un écouvillon flexible en nylon stérile et placés immédiatement dans un tube stérile contenant 3 mL de BD™ Universal Viral Transport Media® (UTM®) (Copan). Les résultats étaient les suivants :

	Site	Type d'échantillon	Flux de travail	Cible
1	Hospital Universitario Miguel Servet (Saragosse, Espagne)	Écouvillons nasopharyngés (Étude rétrospective)	BD MAX™ ExK™ TNA-3 kit + BD MAX™ System	SARS-CoV-2
				Influenza A
				Influenza B
				RSV (types A et B)
				Parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4)
				Coronavirus (OC43, NL63, 229 et HKU1)
				Métagneumovirus
				Adénovirus

Tableau 47. Site, type d'échantillon, flux de travail et cible.

Les valeurs des vrais positifs et négatifs, les valeurs des faux positifs et négatifs, la sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positives (PPV), les valeurs prédictives négatives (NPV) et les rapports de vraisemblance (LR) pour VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System ont été calculés par rapport à chaque test de comparaison comme indiqué dans le tableau suivant :

Site	Test comparateur	Cible	TP	TN	FP	FN	Sensibilité	Spécificité	PPV	NPV	LR+	LR-
1	Cobas® SAR S-CoV-2 & Influenza A/B assay (Roche)	SARS-CoV-2	110	733	7	6	0,95 (0,89–0,98)	0,99 (0,98–0,99)	0,94 (0,88–0,97)	0,99 (0,98–0,99)	100,3 (47,9–209,8)	0,052 (0,02–0,11)
		Flu A	143	699	4	10	0,94 (0,88–0,97)	0,99 (0,98–0,99)	0,97 (0,93–0,99)	0,99 (0,97–0,99)	164,3 (61,8–436,8)	0,066 (0,04–0,12)
		Flu B	29	826	0	1	0,97 (0,83–0,99)	1 (0,99–1)	1 (0,88–1)	0,99 (0,99–1)	1574 (98,4–25172)	0,048 (0,01–0,23)
	Allplex™ RV Essential Assay (Seegene)	Influenza A	143	699	4	10	0,94 (0,88–0,97)	0,99 (0,98–0,99)	0,97 (0,93–0,99)	0,99 (0,97–0,99)	164,3 (61,8–436,8)	0,066 (0,04–0,12)
		Influenza B	29	826	0	1	0,97 (0,83–0,99)	1 (0,99–1)	1 (0,88–1)	0,99 (0,99–1)	1574 (98,4–25172)	0,048 (0,01–0,23)
		RSV (types A et B)	60	787	6	3	0,95 (0,87–0,99)	0,99 (0,98–0,99)	0,91 (0,82–0,96)	0,99 (0,98–0,99)	125,9 (56,61–279,9)	0,048 (0,01–0,15)

		Parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4)	74	765	9	8	0,90 (0,82–0,96)	0,99 (0,98–0,99)	0,90 (0,82–0,95)	0,99 (0,98–0,99)	77,61 (40,38–149,2)	0,099 (0,05–0,19)
		Métapneumovirus	73	778	1	4	0,95 (0,87–0,99)	0,99 (0,99–1)	0,99 (0,93–0,99)	0,99 (0,98–0,99)	738,5 (104,1–5240)	0,052 (0,02–0,14)
		Adénovirus	64	786	5	1	0,99 (0,92–1)	0,99 (0,98–0,99)	0,93 (0,84–0,97)	0,99 (0,99–1)	155,8 (65–373,4)	0,015 (0,002–0,11)
	Allplex™ Respiratory Panel 3 (Seegene) + sequencing	Coronaviruses (OC43, NL63, 229 et HKU1)	39	813	2	2	0,95 (0,84–0,99)	0,99 (0,99–1)	0,95 (0,84–0,99)	0,99 (0,99–1)	387,6 (96,9–1549,9)	0,049 (0,013–0,189)

Tableau 48. Valeurs vrai positif (TP) et vrai négatif (TN), valeurs faux positif (FP) et faux négatif (FN), sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives (PPV), valeurs prédictives négatives (NPV) et rapports de vraisemblance (LR) pour le VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

En conclusion, les résultats montrent une concordance élevée pour la détection de SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, RSV (types A et B), parainfluenza (types 1, 2, 3 et 4), coronavirus (OC43, NL63, 229E et HKU1), métapneumovirus et adénovirus en utilisant VIASURE *Respiratory Virus Extended Mix* Real Time PCR Detection Kit for BD MAX™ System.

Bibliographie

- Abu-Raya, B., Viñeta Paramo, M., Reicherz, F., & Lavoie, P. M. (2023). Why has the epidemiology of RSV changed during the COVID-19 pandemic? *EClinicalMedicine*, 61, 102089. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2023.102089>
- Bergeron, H. C., & Tripp, R. A. (2021). Immunopathology of RSV: An Updated Review. *Viruses*, 13, 2478. <https://doi.org/10.3390/v13122478>
- Buckwalter, S. P., Teo, R., Espy, M. J., Sloan, L. M., Smith, T. F., & Pritt, B. S. (2012). Real-time qualitative PCR for 57 human adenovirus types from multiple specimen sources. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(3), 766–771. <https://doi.org/10.1128/JCM.05629-11>
- CDC |. (2023). *COVID-19*. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/your-health/about-covid-19.html>
- Datta, N. (2023). A review of molecular biology detection methods for human adenovirus. *AIMS Biophysics*, 10(1), 95–120. <https://doi.org/10.3934/BIOPHY.2023008>
- Fernández-Pérez, G. C., Oñate Miranda, M., Fernández-Rodríguez, P., Velasco Casares, M., Corral de la Calle, M., Franco López, Díez Blanco, M., & Cuchat, J. M. O. (2021). SARS-CoV-2: cómo es, cómo actúa y cómo se expresa en la imagen. *Radiología*, 63, 115–126. <https://doi.org/10.1016/j.rx.2020.10.006>
- Friedman, N., Alter, H., Hindiyeh, M., Mendelson, E., Avni, Y. S., & Mandelboim, M. (2018). Human Coronavirus Infections in Israel: Epidemiology, Clinical Symptoms and Summer Seasonality of HCoV-HKU1. *Viruses*, 10. <https://doi.org/10.3390/v10100515>
- Gaunt, E. R., Hardie, A., Claas, E. C. J., Simmonds, P., & Templeton, K. E. (2010). Epidemiology and Clinical Presentations of the Four Human Coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 Detected over 3 Years Using a Novel Multiplex Real-Time PCR Method. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 48(8), 2940–2947. <https://doi.org/10.1128/JCM.00636-10>
- Henrickson, K. J. (2003). Parainfluenza Viruses. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, 16(2), 242–264. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.2.242-264.2003>
- Hu, B., Guo, H., Zhou, P., & Shi, Z. L. (2021). Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, 19, 141–154. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00459-7>
- Ison, M. G., & Hayden, R. T. (2016). Adenovirus. *Microbiology Spectrum*, 4(4), DMIH2-0020–2015. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec>
- Jansen, R. R., Schinkel, J., Koekkoek, S., Pajkrt, D., Beld, M., De Jong, M. D., & Molenkamp, R. (2011). Development and evaluation of a four-tube real time multiplex PCR assay covering fourteen respiratory viruses, and comparison to its corresponding single target counterparts. *Journal of Clinical Virology*, 51, 179–

185. <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2011.04.010>

Krammer, F., Smith, G. J. D., Fouchier, R. A. M., Peiris, M., Kedzierska, K., Doherty, P. C., Palese, P., Shaw, M. L., Treanor, J., Webster, R. G., & García-Sastre, A. (2018). Influenza. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(3), 1–21. <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0002-y>

Lim, Y. X., Ng, Y. L., Tam, J. P., & Liu, D. X. (2016). Human Coronaviruses: A Review of Virus-Host Interactions. *Diseases*, 4(26), 1–28. <https://doi.org/10.3390/diseases4030026>

Lynch, J. P., & Kajon, A. E. (2016). Adenovirus: Epidemiology, Global Spread of Novel Serotypes, and Advances in Treatment and Prevention. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 37, 586–602. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1584923>

Safiabadi Tali, S. H., LeBlance, J. J., Sadiq, Z., Oyewunmi, O. D., Camargo, C., Nikpuor, B., Armanfard, N., Sagan, S. M., & Jahanshahi-Anbuhi, S. (2021). Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clinical Microbiology Reviews*, 34(3), e00228–20.

Schuster, J. E., & Williams, J. V. (2013). Human Metapneumovirus. *Pediatrics in Review*, 34(12), 558–565.

Templeton, K. E., Scheltinga, S. A., Beersma, M. F. C., Kroes, A. C. M., & Claas, E. C. J. (2004). Rapid and Sensitive Method Using Multiplex Real-Time PCR for Diagnosis of Infections by Influenza A and Influenza B Viruses, Respiratory Syncytial Virus, and Parainfluenza Viruses 1, 2, 3, and 4. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 42(4), 1564–1569. <https://doi.org/10.1128/JCM.42.4.1564-1569.2004>

Tyrrell, carina S., Allen, J. L. Y., & Gkrania-Klotsas, E. (2021). Influenza: epidemiology and hospital management. *Medicine (Abingdon, England : UK Ed.)*, 49(12), 797–804.

Uddin, S., & Thomas, M. (2020). Human Metapneumovirus. In *StatsPearls*. StatPearls Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40181-4.00226-7>

Uyeki, T. M., Hui, D. S., Zambon, M., Wentworth, D. E., & Monto, A. S. (2022). Influenza. *The Lancet*, 400, 693–706. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)00982-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00982-5)

WHO | World Health Organization. (n.d.). *Respiratory Syncytial Virus (RSV) disease*. Retrieved August 10, 2023, from <https://www.who.int/teams/health-product-policy-and-standards/standards-and-specifications/vaccine-standardization/respiratory-syncytial-virus-disease>

WHO | World Health Organization. (2023a). *Coronavirus disease (COVID-19)*. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/coronavirus-disease-\(covid-19\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/coronavirus-disease-(covid-19))

WHO | World Health Organization. (2023b). *Influenza (Seasonal)*. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal))

Zeng, Z.-Q., Chen, D.-H., Tan, W.-P., Qiu, S.-Y., Xu, D., Liang, H.-X., Chen, M.-X., Li, X., Lin, Z.-S., Liu, W.-K., & Zhou, R. (2018). Epidemiology and clinical characteristics of human coronaviruses OC43, 229E, NL63, and HKU1: a study of hospitalized children with acute respiratory tract infection in Guangzhou, China. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 37, 363–369. <https://doi.org/10.1007/s10096-017-3144-z>

Symboles pour les composants IVD et réactifs

 Dispositif de diagnostic <i>in vitro</i>	 Tenir au sec	 Utiliser avant	 Fabricant	 Numéro de lot
 Consulter la notice d'utilisation	 Limitation de température	 Contenance suffisante pour <n> test(s)	 Identification unique du dispositif	 Numéro de catalogue
 Marquage CE	 Tenir éloigné de la lumière du soleil			

Marques commerciales

BD MAX™ est une marque déposée de Becton, Dickinson and Company.

Droits de modification réservés. Tous droits réservés. © Certest Biotec, S.L.

Toutes les autres marques commerciales susceptibles d'apparaître dans cette notice sont la propriété de leurs détenteurs respectifs.



Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II, Calle J, N° 1, 50840, San Mateo de Gállego, Saragosse (Espagne)

Tél. (+34) 976 520 354 | viasure@certest.es | www.certest.es

Sponsor en Australie

Becton Dickinson Pty Ltd., 66 Waterloo Road.
Macquarie Park NSW 2113, Australie

Sponsor en Nouvelle-Zélande

Becton Dickinson Limited, 14B George Bourke Drive.
Mt. Wellington Auckland 1060, Nouvelle-Zélande

Contrôle des modifications		
Version n°	Modifications	Date
00	Version originale Cette version est une traduction du document original en anglais : IUo-444221en0825.00.	01/08/2025

Tableau A2. Tableau de contrôle des modifications.

Révision : 1^{er} Août 2025

VIASURE

by **certest**



Certest Biotec, S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II · Calle J, Nº1 50840,
San Mateo de Gállego, Zaragoza (Spain)



(+34) 976 520 354



viasure@certest.es



www.certest.es

certest

F-566 rev.03

Modification rights reserved. All rights reserved. © Certest Biotec, S.L.
The products, services and data set out in this document may suffer changes
and/or variations on the texts and pictures shown.