Kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS (IVD)

REF

MD04901, 96 réactions
MD04902, 4 x 96 réactions

Pour un usage professionnel de diagnostic* in vitro *uniquement

CE IVD

FR

Mode d'emploi

IM-006fr

VERSION 03/2022, octobre 2022

NZYTech genes & enzymes
Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar - Edifício E, R/C, 1649-038 Lisbonne, Portugal
Tél. : +351 213 643 514 | Fax : +351 217 151 168
www.nzytech.com

Sommaire

1. Introduction……3
2. Utilisation prévue……3
3. Principes du test……4
4. Composition du kit……5
5. Conditions de stockage, de stabilité et de manipulation……5
6. Matériel et instruments nécessaires mais non fournis……6
7. Prélèvement et préparation des échantillons……6
8. Précautions et mises en garde……7
8.1 Informations relatives à la sécurité……7
8.2 Exigences en matière de manipulation et de procédure……7
9. Procédure de test……8
9.1 Configuration de la réaction……8
9.2 Programmation de l'instrument de PCR en temps réel……9
10. Analyse des données……10
10.1 Critères de validation du test……10
10.2 Interprétation des résultats des tests……10
11. Évaluation des performances……12
11.1 Résultats attendus……12
11.2 Limite de détection (LD) – Sensibilité analytique……12
11.3 Réactivité analytique (inclusivité) et spécificité analytique……14
11.4 Précision……15
11.5 Évaluation clinique……18
12. Contrôle qualité……18
13. Assistance technique……19
14. Marques déposées et avis de non-responsabilité……19
15. Explication des symboles……19
16. Déclaration de conformité……20
17. Références……21

1. Introduction

La pandémie actuelle de coronavirus (COVID-19), identifiée pour la première fois en Chine et qui s'est propagée rapidement dans la plupart des pays, a provoqué une morbidité et une mortalité d'une ampleur sans précédent dans le monde, ce qui a entraîné des crises sanitaires mondiales et une mise à l'épreuve des ressources sanitaires. L'agent responsable du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV-2) est un nouveau *Bétacoronavirus* présentant une similitude phylogénétique avec le SRAS-CoV. La grippe saisonnière est une infection virale contagieuse des voies respiratoires qui constitue une cause majeure de morbidité, de mortalité et de charge pour les services de santé dans le monde. Toutefois, son taux de létalité est beaucoup plus faible que celui de la COVID-19. Les types A et B de la grippe (Influenza) sont les types dominants de virus grippaux en circulation, la plupart des épidémies de grippe étant liées au type A. La transmission zoonotique de la grippe aviaire ou porcine directement à l'homme, ainsi que la transmission de virus réassorti ont provoqué des pandémies humaines intermittentes notables au cours des dernières décennies. Les infections par le virus de l'influenza de type B sont généralement limitées à l'homme et provoquent moins fréquemment des épidémies. Le virus respiratoire syncytial humain (VRS) est le pathogène respiratoire viral pédiatrique le plus important au monde. Le VRS est un pneumovirus de la famille des paramyxovirus. Cet agent ubiquitaire extrêmement infectieux apparaît chaque année lors d'épidémies saisonnières et presque toutes les personnes sont infectées au moins une fois au cours des deux premières années de leur vie. Le VRS est responsable d'une morbidité et d'une mortalité considérables et il n'existe pas de vaccin approuvé ni de traitement antiviral efficace. Un diagnostic et un isolement rapides sont nécessaires pour éviter la transmission nosocomiale et administrer un traitement approprié.
Les infections respiratoires peuvent « agir en synergie », ce qui signifie que les interactions potentielles entre le SRAS-CoV-2 et d'autres virus respiratoires pourraient accroître la gravité de la maladie. Tous ces virus sont très contagieux et se transmettent par contact, par les gouttelettes respiratoires (toux et éternuements) et par contamination des surfaces. La COVID-19 peut être cliniquement confondue avec une pneumonie causée par VRS ou par le virus de la grippe et la co-infection peut entraîner un mauvais pronostic. Par ailleurs, la circulation plus large d'autres virus respiratoires pourra exercer des pressions de sélection sur le SRAS-CoV-2 et pourrait conduire à l'émergence de nouveaux variants plus préoccupants. Une action est donc indispensable pour empêcher un « triple mélange mortel » de COVID-19, de grippe et de VRS. Les infections par la COVID-19, la grippe et le VRS sont souvent difficiles à différencier sur la base des seuls symptômes et chacun de ces virus est très contagieux. Alors que la saison de la grippe va commencer, il serait intéressant de tester les maladies respiratoires courantes, en plus du COVID-19.
La détection précoce des virus du SRAS-CoV-2, du VRS et de l'influenza de type A et B est essentielle pour administrer un traitement rapide aux patients atteints de maladies respiratoires et pour réduire ainsi la propagation des infections. Les tests combinés pour la COVID-19 et la grippe seront bénéfiques, car un seul échantillon pourrait être utilisé pour dépister les trois infections chez des patients présentant des symptômes similaires, ce qui apporterait une solution pour gérer les patients souffrant d'un syndrome grippal.

2. Utilisation prévue

Le kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech est un test moléculaire conçu pour une détection qualitative rapide des agents responsables de la COVID-

19, du VRS (sous-types A et B) et de l'influenza (types A et B) dans des échantillons biologiques humains. Toutefois, ce kit ne distingue pas l'influenza de type A de l'influenza de type B, car ils sont tous deux détectés dans le même canal de fluorescence FAM. De plus, d'autres bêtacoronavirus ou d'autres virus de la grippe, par exemple le virus influenza de type C, ne sont pas détectés par ce kit. Ce test est destiné à être utilisé comme dépistage primaire du SRAS-CoV-2, de la grippe A/B et du VRS, en association avec des facteurs de risque cliniques et épidémiologiques. Un résultat positif indique la présence d'ARN viral du SRAS-CoV-2 et/ou de l'influenza A/B et/ou du VRS, bien qu'une corrélation clinique avec les antécédents du patient et d'autres informations diagnostiques soit nécessaire pour déterminer son statut d'infection. Les résultats négatifs n'excluent pas l'infection et, par conséquent, les résultats du test ne doivent pas être utilisés comme une base unique pour les décisions relatives à la prise en charge du patient. Ce kit est destiné à être utilisé par un personnel de laboratoire qualifié, spécifiquement formé aux techniques de PCR en temps réel et aux diagnostics *in vitro*.

3. Principes du test

Le kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech fournit un ensemble complet de réactifs et de sondes pour détecter qualitativement les génomes du SRAS-CoV-2 et/ou de l'influenza et/ou du VRS, via des plateformes PCR en temps réel communes (voir les spécifications des instruments requis à la **section 6**). Le SARS-CoV-2 est identifié par la détection de cibles RT-qPCR situées dans les gènes RdRp et N, tandis que le VRS (sous-types A et B) est identifié par la détection de cibles situées dans le gène L. En revanche, les virus de l'influenza de type A et de type B sont détectés par l'amplification de cibles situées dans les gènes M1 et NS2, respectivement. Le kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech a été conçu pour obtenir le profil de détection le plus large possible tout en restant spécifique aux génomes du SRAS-CoV-2, du VRS et de l'influenza de type A et B. Il fournit un ensemble complet de réactifs et de sondes pour détecter les quatre génomes viraux, incluant un contrôle interne efficace pour confirmer l'extraction efficace de l'ARN de l'échantillon et l'absence d'inhibiteurs de PCR, entre autres. Ce kit cible des régions hautement conservées des génomes du SRAS-CoV-2, du VRS (sous-types A et B) et de l'influenza de type A et B, grâce à un ensemble de sondes/amorces hautement optimisé. Par ailleurs, les amorces et les sondes ne présentent pas d'homologie significative avec des génomes non apparentés, ce qui rend ce test extrêmement spécifique. De plus, aucune réactivité croisée avec des organismes que l'on peut trouver dans les voies respiratoires n'est observée. L'évolution naturelle des virus détectés par ce kit implique que de nouvelles informations sur les séquences seront disponibles jour après jour, reflétant des stratégies d'adaptation virale bien connues. Ainsi, NZYTech revoit régulièrement les cibles génomiques virales et, si nécessaire, lance de nouvelles versions de ce kit. La RT-qPCR en temps réel en une étape est la méthode la plus rapide et la plus fiable pour effectuer une détection précise des ARN viraux du SRAS-CoV-2, de l'influenza de type A et B et du VRS. Le kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS de NZYTech est un test multiplex détectant le SRAS-CoV-2, l'influenza de type A, l'influenza de type B, le VRS et les acides nucléiques humains (agissant comme un contrôle positif interne). L'ARN extrait et purifié est retranscrit en ADNc, puis amplifié dans une seule réaction à l'aide de six ensembles d'amorces/sondes extrêmement spécifiques, à savoir ceux qui détectent l'ARN polymérase (RdRp) dépendante de l'ARN du SRAS-CoV-2 et les gènes de la phosphoprotéine (N) de la nucléocapside, les gènes spécifiques de la matrice (M1) et la protéine non-structurale 2 (NS2) de l'influenza de type A et B, le gène L du VRS et le gène de la ribonucléase P humaine (RNase P,

RP). Le kit exploite le principe dit de TaqMan®. Au cours de ce processus, les sondes s'hybrident spécifiquement à leurs gènes cibles et, lors de l'amplification de l'ADN, par l'intermédiaire de deux amorces flanquantes, elles sont soumises à une dégradation qui entraîne la séparation du colorant rapporteur du quencher, ce qui provoque une augmentation de la fluorescence. La détection du contrôle interne (le gène de la RNase P humaine) valide l'efficacité du processus d'extraction ainsi que l'absence d'inhibiteurs de PCR potentiellement présents dans les échantillons biologiques humains. Pour permettre l'identification de l'amplification des six cibles spécifiques dans une seule réaction, SARS-CoV-2, influenza A/B, VRS et RNase P humaine, les sondes spécifiques sont marquées différemment, notamment avec des colorants rapporteurs Texas Red®, FAM™, HEX™ et Cy5, respectivement. Il convient de souligner que ce panel contient un test duplex dans les canaux Texas Red® (gènes cibles spécifiques du SRAS-CoV-2 RdRp et N) et FAM™ (gènes cibles spécifiques de l'influenza de type A et de type B). Cela permet de rendre compte d'une performance additive des tests pour la détection du SARS-CoV-2, mais empêche de distinguer les infections par l'influenza de type A/B. De plus, ce test n'est pas conçu pour différencier les sous-types du virus de l'influenza de type A, ni les souches du virus de l'influenza de type B ou les sous-groupes de VRS. Si la différenciation de souches spécifiques du virus de l'influenza et de sous-types du VRS est nécessaire, des tests supplémentaires seront requis. De plus, les six ensembles d'amorces/sondes sont fournis à des concentrations optimisées garantissant que l'amplification des acides nucléiques moins abondants n'est pas compromise lorsque d'autres cibles virales sont présentes à des concentrations plus élevées.

4. Composition du kit

Le kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech fournit un ensemble complet de réactifs permettant d'effectuer 96 réactions RT-qPCR en une seule étape.

Composant du kit		**Volume (par flacon)**	**Nombre de tubes**	
			MD0490 1	**MD0490 2**
COVID-19, Influenza A/B, VRS MMix	Mélange principal sonde RT-qPCR en une étape Multiplex NZY Suprême (2x)	1050 µL	1	4
COVID-19, Influenza A/B, VRS PPMix	Mélange amorce & sonde COVID-19, Influenza A/B, VRS (10x)	205 µL	1	4
COVID-19, Influenza A/B, VRS POS 1	Contrôle positif 1 COVID-19, Influenza A/B, VRS	105 µL	1	4
COVID-19, Influenza A/B, VRS POS 2	Contrôle positif 2 COVID-19, Influenza A/B, VRS	105 µL	1	4
NTC	Contrôle no-template (eau exempte de RNase/DNase)	105 µL	1	4

5. Conditions de stockage, de stabilité et de manipulation

Le kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech est expédié réfrigéré. Tous les composants doivent être immédiatement stockés entre -85 °C et -15 °C dès leur réception. Lorsqu'ils sont utilisés, les composants du kit doivent être remis au congélateur rapidement après utilisation afin de minimiser le temps passé à température ambiante.

- Réduire au minimum le nombre de cycles de congélation-décongélation en conservant des aliquotes de travail. Si nécessaire, les composants du kit peuvent être aliquotés en plus petits volumes après décongélation.
- Le mélange sonde et amorce COVID-19, influenza A/B, VRS (10x) doit être conservé à l'abri de la lumière. En particulier, il ne faut pas exposer le mélange principal de sondes RT-qPCR en une étape NZY Suprême Multiplex à la lumière directe du soleil après l'avoir combiné au mélange de sondes.
- Si l'emballage qui protège le kit est endommagé, veuillez contacter NZYTech.
- Faites attention à la date de péremption indiquée sur l'emballage. NZYTech ne recommande pas d'utiliser le kit après la date de péremption. À cette date, le kit doit être jeté en suivant les instructions d'élimination présentées à la **section 8.2**.

6. Matériels et instruments requis mais non fournis

- Instrument PCR en temps réel qui détecte les canaux de fluorescence Texas Red, FAM et VIC/HEX (à des longueurs d'onde d'émission de 615, 520 et 556 nm, respectivement). Voir à la **section 11** les modèles d'instruments pour lesquels le kit a été validé.
- Équipement et consommables pour isoler l'ARN viral à partir d'échantillons respiratoires.
- Matériel plastique qPCR exempt de RNase/DNase : Tubes PCR, barrettes, bouchons, plaques à 96 puits, films adhésifs.
- Pipettes et embouts filtrants (sans RNase/DNase).
- Gants jetables.
- Vortex et centrifugeuse.

7. Prélèvement et préparation des échantillons

Différents facteurs, tels que le protocole de prélèvement d'échantillons respiratoires humains (écouvillons nasopharyngés ou oropharyngés, lavage/aspirats nasopharyngés, aspirations nasales, salive, liquide de rinçage de gorge et LBA), le transport des échantillons, leur stockage et la durée de traitement sont essentiels pour obtenir des résultats optimaux. Les échantillons prélevés doivent être testés dès que possible. Les échantillons doivent être transportés et stockés à basse température, conformément aux règlements relatifs à la biosécurité. L'ARN ou les acides nucléiques totaux extraits selon un protocole *in vitro* CE constituent le matériel de départ du kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech. Assurez-vous que les échantillons d'ARN sont appropriés en matière de pureté, de concentration et d'intégrité des acides nucléiques. Un rapport $A_{260/280}$ d'environ 2 est généralement accepté pour un ARN pur. L'éthanol étant un puissant inhibiteur de PCR, il est nécessaire de l'éliminer avant l'élution de l'acide nucléique lors de l'extraction. Le kit NZYTech comprend une réaction de contrôle interne d'extraction de l'ARN qui cible l'ARN humain, lequel est co-purifié avec l'ARN viral. L'ARN humain est amplifié avec l'ensemble d'amorces/sondes RNase P (RP), ce qui est utile pour vérifier l'efficacité de l'isolement de l'ARN et/ou la présence d'inhibiteurs pendant le traitement de l'échantillon.

8. Précautions et mises en garde

Comme pour toute procédure de test analytique, les bonnes pratiques de laboratoire sont essentielles. Suivez attentivement les procédures et les directives figurant dans ce manuel pour vous assurer que le test est effectué correctement. Tout non-respect de ces procédures et directives peut entraîner l'échec du test ou des résultats erronés. En raison de la grande sensibilité du kit, il convient de veiller tout particulièrement à ce que les réactifs et les mélanges d'amplification PCR ne soient pas contaminés.

8.1 Informations relatives à la sécurité

Avant d'utiliser le kit, veuillez consulter la fiche de données de sécurité (FDS) disponible sur le site Internet de NZYTech (www.nzytech.com). Ce kit de détection ne doit être utilisé que par du personnel formé aux procédures techniques et de sécurité et dans des laboratoires dûment équipés. Les directives internationales et nationales sur la biosécurité en laboratoire doivent être respectées en toutes circonstances.

8.2 Exigences en matière de manipulation et de procédure

- Réservé à un usage professionnel de diagnostic *in vitro*.
- N'utilisez pas ce kit après la date d'expiration.
- N'utilisez pas les composants du test si l'emballage hermétique du kit est endommagé.
- Ne mélangez pas les réactifs de lots de production différents.
- Aucun réactif d'autres fabricants ne doit être utilisé avec les réactifs de ce kit de test.
- Des pipettes et des récipients en plastique jetables sans DNase/RNase doivent être utilisés dans toutes les procédures.
- Utilisez des embouts filtrants sans DNase/RNase tout au long du protocole pour éviter la contamination par les aérosols et les liquides.
- La préparation des échantillons, la mise en place de la réaction et l'amplification doivent être effectuées dans des zones de travail différentes
- Les contrôles positifs contiennent des modèles à nombre de copies élevé ; ils doivent être ouverts et traités à l'écart des échantillons de test et des composants du kit pour éviter toute contamination croisée.
- Utilisez toujours l'eau fournie dans le kit (NTC - No-template Control/Eau sans DNase)
- À la fin de chaque test, nettoyez les surfaces de travail et l'équipement avec un dissolvant d'ADN/ARN.
- Après amplification, manipulez les plaques avec précaution et jetez-les immédiatement après la fin des tests ; les plaques doivent toujours être jetées dans un conteneur à risque biologique approprié après utilisation.
- Les échantillons biologiques doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux en suivant les précautions de biosécurité appropriées.
- Les résidus de produits chimiques et de préparations sont généralement considérés comme des déchets dangereux. L'élimination de ce type de déchets est réglementée par des lois et règlements nationaux et régionaux.
- Tous les résultats doivent être interprétés par un professionnel de santé en prenant en compte les antécédents médicaux et les symptômes cliniques du patient.

- Un résultat négatif à un test PCR n'exclut pas de manière concluante la possibilité d'une infection.
- Respectez les bonnes pratiques de laboratoire, portez des vêtements de protection, portez en permanence des gants jetables non poudrés et utilisez des lunettes de protection et un masque. Ne pas manger, boire ou fumer dans la zone de travail.

9. Procédure de test

Veuillez lire attentivement le mode d'emploi avant d'effectuer le test. Attention, toutes les étapes de pipetage et la mise en place des plaques expérimentales doivent être effectuées sur des refroidisseurs de paillasse ou sur de la glace. Après avoir ajouté les réactifs sur la plaque, passez immédiatement au protocole RT-qPCR en une étape. Une incubation prolongée des mélanges réactionnels à température ambiante peut entraîner des artefacts de PCR réduisant la sensibilité de la détection. Avant l'expérience, commencez à remuer doucement les tubes de réaction fournis, centrifugez pendant 5 secondes pour collecter le contenu au fond du tube et mettre les tubes sur de la glace. **Nous recommandons fortement de pipeter les contrôles positifs 1 et 2 de COVID-19, grippe A/B, VRS en dernier pour éviter les contaminations croisées.**

9.1 Configuration de la réaction

1. Préparez un mélange RT-qPCR suffisant pour le nombre de tests à effectuer avec un volume supplémentaire de 5 % pour les pertes de pipetage. Procédez conformément au tableau ci-dessous qui précise les volumes pour 1 et *n* tests (où *n* correspond au nombre total de réactions) :

Composant	**1 test** **Volume (µL)**	***n* tests (*)** **Volume + 5 % (µL)**
COVID-19, grippe A/B, VRS MMix (2x)(**)	10	*n* x 10,5
COVID-19, grippe A/B, VRS Primer & Probe Mix (10x)	2	*n* x 2.1
Volume final	**12**	***n* x 12,6**

(*) Pour calculer le nombre total de réactions nécessaires pour chaque test, comptez le nombre d'échantillons et ajoutez-en trois autres pour le contrôle négatif et les deux contrôles positifs.
(**) Veuillez noter qu'un précipité au fond du tube de mélange principal peut être observé, en particulier après de multiples cycles de congélation/décongélation. Pour garantir une performance optimale, assurez-vous que tous les composants sont décongelés et remis en suspension avant utilisation. Dans ce cas, ne pas faire tourner le mélange maître avant de le pipeter.

2. Pipetez 12 µL du mélange RT-qPCR dans des puits individuels, selon la configuration de votre plaque expérimentale de PCR en temps réel.
3. Pour le <u>contrôle négatif</u>, ajoutez 8 µL de NTC à la place de la matrice d'ARN dans le puits de contrôle négatif. Le volume final doit être de 20 µL.
4. Pour les <u>échantillons biologiques</u>, ajoutez 8 µL de chaque échantillon d'ARN dans les puits d'échantillons, selon la configuration de votre plaque expérimentale. Le volume final dans chaque puits doit être de 20 µL.
5. Pour les deux <u>contrôles positifs</u>, ajoutez 8 µL de COVID-19, influenza A/B, VRS POS 1 (détecte les gènes SARS-CoV-2 ORF1ab, Influenza B NS2, VRS L et RP humain) et 8 µL de COVID-19,

influenza A/B, VRS POS 2 (SARS-CoV-2 N, influenza A M1, VRS L et RP humain) à la place de la matrice d'ARN dans les puits de contrôle positif. Le volume final doit être de 20 µL.

6. Couvrez et scellez la plaque avec un film adhésif optique approprié ou des bouchons avant de procéder aux étapes de RT-qPCR et de détection.
7. Placez la plaque de réaction dans l'instrument de PCR en temps réel et exécutez le protocole de RT-qPCR conformément à la section ci-dessous.

9.2 Programmation de l'instrument de PCR en temps réel

Le tableau ci-dessous présente un protocole standard optimisé pour un certain nombre de plateformes. Toutefois, ces conditions peuvent être adaptées et validées pour convenir à différents protocoles spécifiques à une machine.

Paramètres suggérés pour l'exécution de la RT-qPCR

Cycles	Température	Durée	Étape
1	50 °C	10 min	Rétrotranscription
1	95 °C	3 min	Activation de la polymérase
40	95 °C	5 s	Dénaturation
	60 °C	30 s	Hybridation/élongation

*Les données fluorogéniques doivent être collectées au cours de cette étape par les canaux Texas Red, FAM, VIC/HEX et Cy5.

Colorants fluorescents et canaux de détection

Cibles	Colorant fluorescent	Canaux de détection
COVID-19 (SARS-CoV-2)	Texas Red®	Texas Red/JUN
Grippe A/B (Influenza A/Influenza B)	FAM™	FAM
VRS	HEX™	VIC/HEX ou JOE
RNase P	Cy5™	Cy5

Le kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech a été validé pour les systèmes de PCR en temps réel suivants : Applied Biosystem® 7500 FAST, Applied Biosystem® QuantStudio 5, Roche Life Science LightCycler® 96 System et Bio-Rad® CFX Opus. Si d'autres équipements sont utilisés, le kit doit être validé par l'utilisateur en utilisant des échantillons préalablement caractérisés (positifs et négatifs).

10. Analyse des données

10.1 Critères de validation du test

L'analyse des données est effectuée par le logiciel de l'instrument. Compte tenu des différences de performance entre les différents instruments de PCR en temps réel, les seuils des quatre signaux de fluorescence (Texas Red, FAM, VIC/HEX et Cy5) sont déterminés automatiquement par le logiciel, avec des ajustements manuels si nécessaire. Avant d'analyser les résultats des échantillons, nous recommandons de vérifier si le test PCR en temps réel est valide. Ainsi, pour chaque plaque, confirmez si les résultats des contrôles positifs et négatifs sont ceux attendus, selon les critères suivants :

Contrôles positifs : l'amplification des courbes FAM (influenza B dans le contrôle 1 et influenza A dans le contrôle 2), Texas Red® (gène ORF1ab du SRAS-CoV-2 dans le contrôle 1 et gène N dans le contrôle 2), VIC/HEX (gène L du VRS) et Cy5 (gène RP) est positive. Les contrôles positifs doivent s'amplifier à Cts < 32, dans les quatre canaux. Le fait de ne pas satisfaire à ce critère de contrôle de qualité est une forte indication que le test a été compromis.

Contrôle négatif (pas de réaction de la matrice) : aucune amplification n'est détectée. Si le contrôle négatif présente des courbes d'amplification (Texas Red, FAM ; VIC/HEX et Cy5) de forme sigmoïdale, l'échantillon peut avoir été contaminé. Répétez le test en suivant les bonnes pratiques de RT-qPCR.

Si les contrôles sont conformes aux attentes, le test est **valide**. Procédez à l'interprétation des résultats des échantillons testés.

Si l'un des contrôles ne présente pas les résultats attendus, le test a été compromis ou exécuté de manière incorrecte et doit être considéré comme **non valide.**
Veuillez refaire le test
Si le problème persiste, contactez le fabricant

10.2 Interprétation des résultats des tests

Le kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech utilise les valeurs seuil Ct suivantes pour les cibles du test pour l'interprétation des résultats :

Valeur Ct	Interprétation des résultats
Amplification Ct ≤ 35	**Détecté (+)→ POSITIF**
***Pas d'amplification* Ct>35**	**Non détecté (-)→ NÉGATIF**

Le SARS-CoV-2 est détecté si la courbe d'amplification Texas Red présente une forme sigmoïdale avec Ct ≤ 35, quel que soit le résultat obtenu pour le test RNase P (Cy5).

L'influenza A et/ou l'influenza B sont détectées si la courbe d'amplification FAM présente une forme sigmoïdale avec Ct ≤ 35, quel que soit le résultat obtenu pour le test RNase P (Cy5).

Le VRS est détecté si la courbe d'amplification VIC/HEX présente une forme sigmoïdale avec Ct ≤ 35, quel que soit le résultat obtenu pour le test RNase P (Cy5).

Le SARS-CoV-2, l'influenza A et/ou l'influenza B et le VRS ne sont pas détectés si les courbes Texas Red, FAM et VIC/HEX ne s'amplifient pas ou s'amplifient avec Ct > 35, tandis que le test RNase P (Cy5) présente une courbe sigmoïde positive (Ct≤ 40).

Le test est non valide si les tests SARS-CoV-2, influenza A/B, VRS et RNase P sont négatifs. Le test doit être répété avec de l'acide nucléique repurifié à partir de l'échantillon.

Le tableau suivant résume l'interprétation des principaux résultats (évaluez la forme générale des courbes d'amplification ; **seules les courbes d'amplification sigmoïdales indiquent une véritable amplification**).

SARS-CoV-2 (Texas Red)	**Influenza A/B** (FAM)	**VRS** (VIC/HEX)	**RP** (Cy5)	**Interprétation des résultats**
+	-	-	+/-*	**SARS-CoV-2 détecté→ POSITIF**
-	+		+/-*	**Influenza A/B détecté→ POSITIF**
-	-	+	+/-*	**VRS→ POSITIF**
+	+	-	+/-*	**SARS-CoV-2 et Influenza A/B détectés→ POSITIF**
+	-	+	+/-*	**SRAS-CoV-2 et VRS détectés → POSITIF**
-	+	+	+/-*	**Influenza A/B et VRS détectés → POSITIF**
+	+	+	+/-*	**SARS-CoV-2, Influenza A/B, VRS détectés → POSITIF**
-	-	-	+/-*	**SARS-CoV-2, Influenza A/B et VRS non détectés→ NEGATIF**
-	-	-	-	**Test non valide, répéter l'extraction**

** La détection du contrôle interne sur le canal Cy5 n'est pas nécessaire pour obtenir des résultats positifs sur les canaux de détection Texas Red, FAM ou HEX. Une concentration/charge élevée d'ARN viral détectable dans l'échantillon peut conduire à un signal de contrôle interne réduit ou absent*.

Remarque : L'interprétation des résultats doit tenir compte de la possibilité de faux négatifs et de faux positifs.

- Bien que le risque de résultats faux négatifs soit atténué grâce à la conception à double cible du présent test, des résultats faux négatifs peuvent être causés par :
  - Prélèvement, manipulation et/ou stockage inappropriés des échantillons.

- Échantillon prélevé en dehors de la phase virémique/symptomatique.
- Dégradation de l'échantillon.
- Présence d'inhibiteurs de RT-qPCR.
- Mutations du génome des virus.
- Non-respect des procédures du présent manuel.
- Utilisation de kits de réception ou de plateformes PCR en temps réel non validés.

- Les résultats faux positifs peuvent être causés par :
  - Manipulation inadaptée d'échantillons contenant une forte concentration d'ARN viral. La méthode RT-qPCR étant très sensible aux contaminations croisées, il est important de prendre des précautions particulières lors de l'isolement de l'ARN.
  - Manipulation inadaptée de contrôles positifs.
  - Manipulation inadaptée du produit amplifié (plaque post-amplification).

Un résultat négatif n'exclut pas une infection et le résultat du test ne doit pas être utilisé comme seule base pour le traitement ou d'autres décisions de prise en charge du patient. Par ailleurs, ce test ne permet pas d'exclure les maladies provoquées par d'autres agents pathogènes bactériens ou viraux.

11. Évaluation des performances

Les performances de ce kit ont été validées pour les instruments indiqués à la section 9.2 ci-dessus. Si un autre équipement est utilisé, le kit doit être validé par l'utilisateur en utilisant des échantillons précédemment caractérisés (positifs et négatifs).

11.1 Résultats attendus

Les courbes d'amplification typiques observées pour les échantillons cliniques négatifs (figure 1A) ou les échantillons de patients infectés par le SRAS-CoV-2 (figure 1B), la co-infection par le SRAS-CoV-2 et l'influenza A/B (C) et la co-infection par le SRAS-CoV-2, l'influenza A/B et le VRS (D), sont présentés à la figure 1.

11.2 Limite de détection (LD) - Sensibilité analytique

La sensibilité analytique a été définie comme la plus faible concentration d'analyte pouvant être détectée de manière fiable, avec un niveau de confiance de 95 %. Elle a été évaluée en testant les acides nucléiques du SRAS-CoV-2, du VRS, de l'influenza A et de l'influenza B à différents nombres de copies, enrichis en ARN extrait d'échantillons oropharyngés négatifs, en utilisant 3 lots différents de kits dans des conditions de test de réaction typiques. Les tests ont été répétés pendant 4 jours, produisant 48 répétitions pour chaque concentration testée. Ensemble, les données ont démontré que le kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech détecte 0,25 copies/µL de SARS-CoV-2, 0,375 copies/µL d'Influenza A, 0,375 copies/µL d'Influenza B et 0,375 copies/µL de VRS, avec une confiance ≥ 95 %.

Ainsi, la limite de détection (LD) préliminaire a été déterminée comme étant de 0,25 copie/µL ou 250 copies/ml pour le SARS-CoV-2, 0,375 copie/µL ou 750 copies/ml pour le VRS, 0,375 copie/µL ou 375 copies/ml pour l'influenza A et 0,375 copie/µL ou 375 copies/ml pour l'influenza

B. La limite de détection préliminaire a été confirmée par deux opérateurs différents à l'aide de trois lots de kits dans le cadre d'une expérience totalisant 48 répétitions d'échantillons d'écouvillons oropharyngés (OPS) et d'écouvillons nasopharyngés (NPS) négatifs, artificiellement enrichis de diverses concentrations de virus (inactivés) provenant du SRAS-CoV-2, de l'influenza A, de l'influenza B, du VRS A ou du VRS B. Des échantillons groupés de NPS ou d'OPS ont été enrichis de diverses concentrations de virus provenant des souches suivantes : virus du SRAS-CoV-2 (isolat du variant Omicron), virus de l'influenza A : souche A/Michigan/45/2015 (H1N1) pdm09), souche A/Singapour/ INFIMH-16-0019/2016 (H3N2), virus de l'influenza B souche B/Colorado/06/2017 (souche Vitoria) et souche B/Phuket/3073/2013 (souche Yamagata), VRS A et VRS B (souche CH93 (18)-18), à plusieurs concentrations et traités avec le kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech.

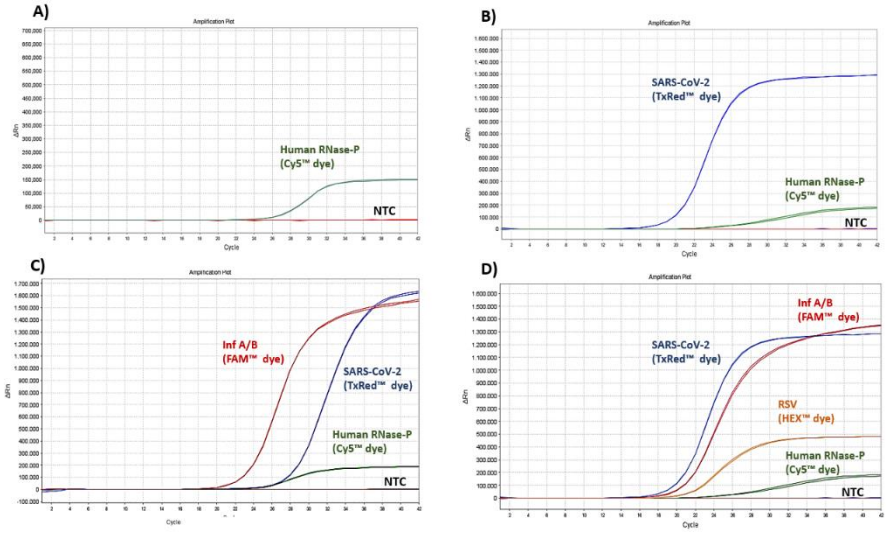

Figure 1. Détection des cibles du SARS-CoV-2, de l'Influenza A/B, du VRS et de la RNase-P humaine à partir d'échantillons cliniques négatifs (A) ou d'échantillons cliniques infectés par le SARS-CoV-2 (B), la co-infection par le SARS-CoV-2 et l'Influenza A/B (C) et la co-infection par le SARS-CoV-2, l'Influenza A/B et le VRS (D). La courbe bleue représente la détection des cibles de l'ARNv du SRAS-CoV-2 par le canal Texas Red/JUN. La courbe rouge représente la détection des cibles Influenza A et/ou Influenza B par le canal FAM. La courbe orange représente la détection du gène L du VRS par le canal VIC/HEX/JOE. Et la courbe verte représente la détection du gène de la RNase P humaine par le canal Cy5.

La sensibilité analytique du kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech dans le contexte d'un scénario de co-infection (interférence compétitive) a été évaluée en réalisant une série d'expériences de dilution en série à l'aide d'échantillons de co-infection fictive pour chacune des cibles virales. Pour créer les échantillons de co-infection fictive, on a ajouté à la courbe standard de SARS-CoV-2 exactement 10^3 copies d'acides nucléiques de VRS, 10^3 copies d'acides nucléiques d'Influenza A et 10^3 copies d'acides nucléiques d'Influenza B. Par ailleurs, 10^3 copies de SARS-CoV-2 et 10^3 copies de VRS ont été ajoutées aux courbes standard de l'Influenza A et de l'Influenza B, individuellement. Enfin, 10^3 copies de SARS-

CoV-2, 10^3 copies d'Influenza A et 10^3 copies d'acides nucléiques d'Influenza B ont été ajoutées à la courbe standard VRS. Des échantillons quadruples de trois lots du kit (soit un total de 12 répétitions par dilution) ont été testés avec le kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech, afin de déterminer la sensibilité du test lorsque plusieurs cibles virales sont présentes dans un échantillon. Les données ont révélé que la LD du SRAS-CoV-2 n'était pas modifiée en cas de co-infection. Cependant, la LD du VRS est passée à 0,75 copies/µL ou 750 copies/mL et celle de l'Influenza B à 1,25 copies/µL ou 1250 copies/mL en cas de co-infection. Pour l'influenza A, la LD est passée à 2,5 copies/µL ou 2500 copies/mL en cas de co-infection.

11.3 Réactivité analytique (inclusivité) et spécificité analytique

L'inclusivité et la réactivité croisée ont été évaluées par une analyse *in silico* des sondes et des amorces oligonucléotidiques contre des agents pathogènes liés au SRAS-CoV-2, à l'influenza A et à l'influenza B, au VRS et à des agents pathogènes normaux qui provoquent une infection avec des symptômes similaires, respectivement. L'analyse *in silico* a révélé que la conception du test permettait de détecter toutes les souches virales du SRAS-CoV-2, de l'influenza A et de l'influenza B, ainsi que du VRS, et ne montrait aucune réactivité avec les espèces non apparentées. En plus de l'analyse *in silico*, le test RT-qPCR multiplex en une étape COVID-19, grippe A/B, VRS a été réalisé sur les acides nucléiques de microbes courants des voies buccales et respiratoires, notamment *Bacteroides ovatus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Burkholderia vietnamiensis*, *Dickeya dadantii*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Mycobacterium intracellulare*, *Mycobacterium mageritense*, *Mycobacterium smegmatis*, *Nocardia nova*, *Pseudomonas mendocina*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptomyces avermitilis*, *Streptomyces albidoflavus*. Aucun des agents pathogènes testés par le kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD n'a généré de signal d'amplification détectable.

L'impact de 17 substances potentiellement interférentes a été évalué dans des tests consistant en des échantillons nasopharyngés négatifs enrichis par des échantillons positifs au SRAS-CoV-2 à environ 3x LD. Des substances potentiellement interférentes ont été ajoutées aux échantillons artificiels à des concentrations représentant les niveaux les plus élevés attendus dans les échantillons de patients respiratoires humains sur la base des données de la littérature scientifique. Tous les tests ont été réalisés en triplicata en utilisant trois lots de kits et les résultats ont été comparés aux données obtenues avec un test de contrôle ne contenant pas d'interférents. Aux concentrations testées, les résultats ont révélé qu'aucune des molécules testées n'affectait la sensibilité de la détection. Le tableau ci-dessous résume les données recueillies dans le cadre de ces expériences. Toutes les expériences ont été réalisées avec l'instrument Applied Biosystems™ 7500 FAST Real-time PCR (utilisé avec le logiciel 7500 v2.3).

Interférent potentiel	Ingrédient actif	Concentration finale de l'échantillon	Interférence Oui (O) ou Non (N)				
			SRAS-CoV-2	Influenza A	Influenza B	VRS A	VRS B
Eau de mer isotonique (Rhinomer)	NaCl	15 % v/v	N	N	N	N	N
Spray pour la gorge, anesthésique oral et analgésique (Strepfen)	Flurbiprofène	5 % v/v	N	N	N	N	N
Solution de lavage nasal (spray antiallergique - Vibrocil)	Propionate de fluticasone	5 % v/v	N	N	N	N	N
Corticostéroïdes nasaux en spray (Nasomet)	Furoate de mométasone	5 % v/v	N	N	N	N	N
Corticostéroïdes nasaux en spray (Pulmicort)	Budesonide	5 % v/v	N	N	N	N	N
Antimicrobien, systémique (Trobex)	Trobamycine	10 µg/mL	N	N	N	N	N
Analgésique buccal, anti-inflammatoire et antiseptique (Pyralvex)	Extrait de rhubarbe, acide salicylique	5 % v/v	N	N	N	N	N
Sujet oralpharyngé antifongique et antibactérien (Daktarin)	Miconazole	5 mg/mL	N	N	N	N	N
Bain de bouche solution antiseptique (Eludril Gé)	Gluconate de chlorhexidine, Chlorobutanol hémihydraté	5 % v/v	N	N	N	N	N
Antitussif, sirop (Codipront)	Codéine, citrate de phényltoloxamine	5 % v/v	N	N	N	N	N
Sang total (humain)	-	4 % v/v	N	N	N	N	N
Médicament antiviral (Tamiflu)	Oseltamivir	7,5 mg/mL	N	N	N	N	N
Mucolytique (Mucolsovan)	Chlorhydrate d'ambroxol	5 % v/v	N	N	N	N	N
Solution de gouttes nasales (Nasarox)	Chlorhydrate d'oxymétazoline	10 % v/v	N	N	N	N	N
Antibiotique, pommade nasale (Bactroban)	Mupirocine	5 mg/mL	N	N	N	N	N
Salive (humaine)	-	25 % v/v	N	N	N	N	N
Éthanol absolu	Alcool	5 % v/v	N	N	N	N	N

11.4 Précision

La précision de test du kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech a été déterminée par l'analyse répétée d'échantillons positifs représentant deux niveaux de charge virale, 3x LD et 30x LD copies par réaction, enrichis en ARN extrait d'échantillons oropharyngés négatifs, en utilisant 3 lots de kits différents et en suivant les conditions de réaction typiques des tests. La précision a été évaluée en mesurant le Cq moyen, le coefficient de variation et le % de détection des répétitions, comme décrit ci-dessous pour chaque cas. Les données sont reprises dans les trois tableaux (un pour chaque cible) présentés ci-dessous.

11.4.1. Répétabilité

La répétabilité a été évaluée par un opérateur en analysant 12 répétitions de chaque échantillon (3x LD et 30x LD copies par réaction), ce qui représente un nombre final de 24 tests effectués par cible.

11.4.2. Reproductibilité quotidienne

La reproductibilité quotidienne a été évaluée par un opérateur en analysant 48 répétitions de chaque échantillon (3x LD et 30x LD copies par réaction), pendant 4 jours, avec 12 répétitions de chaque concentration par jour (soit un total de 96 tests par cible réalisés).

11.4.3. Reproductibilité lot à lot

La reproductibilité entre les lots a été évaluée par un opérateur via l'analyse de 84 répétitions de chaque échantillon (3x LD et 30x LD copies par réaction) en utilisant 3 lots de kits différents avec 28 répétitions par lot.

11.4.4. Reproductibilité de l'opérateur

La reproductibilité de l'opérateur a été évaluée en testant 24 répétitions de chaque échantillon (3x LD et 30x LD copies par réaction), par quatre opérateurs différents, avec 6 répétitions par opérateur et par charge virale, soit un total de 36 répétitions par opérateur, incluant les 3 cibles du kit.

11.4.5 Reproductibilité inter-instruments

La reproductibilité inter-instruments a été mesurée par un opérateur en testant 24 répétitions de chaque échantillon (3x LD et 30x LD copies par réaction), dans deux instruments qPCR différents (Applied Biosystems™ 7500 FAST, Applied Biosystems™ QuantStudio 5), soit un total de 48 tests par échantillon.

Précision du kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech, dans la détection de la cible SARS-CoV-2.

Variable		SARS-CoV-2 (Copies/Réaction)	
		3x LD	**30x LD**
Répétabilité	n	12	12
	Cq moyen	33,84	30,75
	Coefficient de variation (%)	0,61	0,19
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité quotidienne	n	48	48
	Cq moyen	33,79	30,66
	Coefficient de variation (%)	2,02	1,62
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité lot à lot	n	84	84
	Cq moyen	33,82	30,59
	Coefficient de variation (%)	1,96	1,60
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité de l'opérateur	n	24	24
	Cq moyen	33,86	30,73
	Coefficient de variation (%)	1,26	1,13
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité inter-instrument	n	24	24
	Cq moyen	33,83	30,30
	Coefficient de variation (%)	2,20	1,49
	% de détection des répétitions	100	100

Précision du kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech, dans la détection de la cible Influenza A.

Variable		Influenza A (Copies/Réaction)	
		3x LD	**30x LD**
Répétabilité	n	12	12
	Cq moyen	34,39	31,26
	Coefficient de variation (%)	3,31	1,05
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité quotidienne	n	48	48
	Cq moyen	34,30	30,92
	Coefficient de variation (%)	2,90	1,52
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité lot à lot	n	84	84
	Cq moyen	34,28	30,76
	Coefficient de variation (%)	2,55	1,88
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité de l'opérateur	n	24	24
	Cq moyen	34,14	30,97
	Coefficient de variation (%)	1,43	0,57
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité inter-instrument	n	24	24
	Cq moyen	34,44	30,67
	Coefficient de variation (%)	3,34	2,02
	% de détection des répétitions	100	100

Précision du kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech, dans la détection de la cible Influenza B.

Variable		Influenza B (Copies/Réaction)	
		3x LD	**30x LD**
Répétabilité	n	12	12
	Cq moyen	33,87	30,63
	Coefficient de variation (%)	1,85	1,19
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité quotidienne	n	48	48
	Cq moyen	33,75	30,23
	Coefficient de variation (%)	2,10	2,56
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité lot à lot	n	84	84
	Cq moyen	33,73	30,23
	Coefficient de variation (%)	1,99	2,00
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité de l'opérateur	n	24	24
	Cq moyen	33,70	30,34
	Coefficient de variation (%)	1,51	0,65
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité inter-instrument	n	24	24
	Cq moyen	33,93	30,27
	Coefficient de variation (%)	2,47	1,29
	% de détection des répétitions	100	100

Précision du kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech, dans la détection de la cible VRS.

Variable		Influenza B (Copies/Réaction)	
		3x LD	30x LD
Répétabilité	n	12	12
	Cq moyen	33,66	30,126
	Coefficient de variation (%)	1,00	0,84
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité quotidienne	n	48	48
	Cq moyen	33,24	30,05
	Coefficient de variation (%)	2,55	0,84
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité lot à lot	n	84	84
	Cq moyen	33,50	30,26
	Coefficient de variation (%)	2,16	1,23
	% de détection des répétitions	100	100
Reproductibilité de l'opérateur	n	24	24
	Cq moyen	33,32	30,18
	Coefficient de variation (%)	2,85	1,33
	% de détection des répétitions	100	100
Inter-instrument Reproductibilité	n	24	24
	Cq moyen	33,30	30,20
	Coefficient de variation (%)	1,19	0,90
	% de détection des répétitions	100	100

11.5 Évaluation clinique

La performance du kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech avec les échantillons cliniques respiratoires collectés a été évaluée par un laboratoire de diagnostic moléculaire indépendant. Au total, 1516 échantillons cliniques ont été testés : 850 échantillons négatifs ; 293 échantillons cliniques positifs au SRAS-CoV-2 (de mai 2021 à juin 2022, cette période couvre différentes vagues du SARS-CoV-2) ; 123 échantillons cliniques positifs à l'influenza A (41 pour AH1, 41 pour AH1N1 pdm, 41 pour AH3) ; 82 échantillons cliniques positifs à l'influenza B (41 pour la souche Vitoria et 41 pour la souche Yamagata) ; 168 échantillons positifs au VRS (88 pour le sous-type A et 88 pour le sous-type B). Les données ont révélé une concordance de 99 % pour tous les échantillons positifs et négatifs testés.

12. Contrôle qualité

Tous les composants du kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech sont testés selon les protocoles décrits ci-dessus. Le système hexaplex de PCR en temps réel permet la détection des cibles décrites pour l'identification de l'ARN viral du SRAS-CoV-2 (gènes RdRp et N), de l'ARN viral de l'influenza A/B (gènes M1 et NS2, respectivement), de l'ARN viral du VRS (gène L) ainsi que de la RNase P humaine (gène RP). Des amplifications positives sont observées pour les gènes cibles, le contrôle positif et les contrôles internes via les canaux Texas Red, FAM, HEX/VIC et Cy5, selon les colorants rapporteurs respectifs de l'ensemble amorces/sondes.

13. Assistance technique

Pour tout besoin d'assistance technique, veuillez contacter notre équipe d'assistance technique dédiée par téléphone, au +351 (0) 21 364 35 14, ou par e-mail à l'adresse info@nzytech.com.

14. Marques déposées et avis de non-responsabilité

Toutes les marques déposées qui figurent dans ce manuel sont la propriété de leurs propriétaires respectifs.

15. Explication des symboles

IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*		Consulter le mode d'emploi
REF	Numéro de catalogue		Fabricant
LOT	Code du lot		Péremption
	Limites de température	Σ	Suffisant pour
CONTROL +	Contrôle positif		Conserver à l'écart de la lumière du soleil (mélange amorce/sonde)
CONTROL –	Contrôle négatif		

16. Déclaration de conformité

Nom du produit : kit RT-qPCR Multiplex en une étape COVID-19, Grippe A/B, VRS, IVD de NZYTech

Numéro de catalogue : MD04901 et MD04902.

Utilisation prévue : Détection qualitative du SRAS-CoV-2, de l'influenza A et de l'influenza B, et du VRS.

Fabricant : NZYTech – Genes & Enzymes

Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar

Edifício E, R/C,

1649-038, Lisbonne

Portugal

Nous, NZYTech, Lda – Genes & Enzymes, déclarons par la présente que le présent produit, auquel se rapporte cette déclaration de conformité, est conforme aux normes et autres documents normatifs suivants : ISO 9001:2015 et ISO 13485:2016, conformément aux dispositions de la directive 98/79/CE et du règlement (UE) 2017/746 relatives aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*, telles qu'elles sont transposées dans les lois nationales des États membres de l'Union européenne.

Le dossier technique du produit est archivé chez NZYTech, Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar – Edifício E, R/C, 1649-038 Lisbonne, Portugal.

Joana Brás, PhD

Directrice technique

17. Références

Swets MC, Russell CD, Harrison EM, Docherty AB, Lone N, Girvan M, Hardwick HE ; ISARIC4C Investigators, Visser LG, Openshaw PJM, Groeneveld GH, Semple MG, Baillie JK (2022). Co-infection du SRAS-CoV-2 avec les virus de la grippe, le virus respiratoire syncytial ou des adénovirus. Lancet 399(10334):1463-1464. doi : 10.1016/S0140-6736(22)00383-X.

Gomez GB, Mahé C, Chaves SS (2021). Effets incertains de la pandémie sur les virus respiratoires. Science 372:1043-1044.

Hansen CL, Chaves SS, Demont C, Viboud C.J (2022). Mortalité associée à la grippe et au virus respiratoire syncytial aux États-Unis, 1999-2018. AMA Netw Open. 5(2):e220527. doi : 10.1001/jamanetworkopen.2022.0527.

Dhanasekaran, V., Sullivan, S., Edwards, K.M. et al. (2022). La grippe saisonnière humaine sous COVID-19 et les conséquences potentielles de l'élimination de la souche grippale. Nat Commun 13, 1721 (2022). https://doi.org/10.1038/s41467-022-29402-5.

Chotpitayasunondh T, Fischer TK, Heraud JM, Hurt AC, Monto AS, Osterhaus A, Shu Y, Tam J (2021). Influenza et COVID-19 : que signifie la coexistence ? Influenza et autres virus respiratoires. 15 : 407-412

OMS : Prise en charge clinique de l'infection respiratoire aiguë sévère (IRAS) en cas de suspicion de COVID-19. 13 mars 2020. Disponible en ligne à l'adresse suivante : https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/clinical-management-of-novel-cov.pdf

OMS : Q&R : Grippe et COVID-19 – Similitudes et différences. 30 septembre 2021. Disponible en ligne à l'adresse suivante : https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/question-and-answers-hub/q-a-detail/q-a-similarities-and-differences-covid-19-and-influenza.

nzytech
genes & enzymes

Estrada do Paço do Lumiar, Campus do Lumiar – Edifício E, R/C, 1649-038 Lisbonne, Portugal
Tél. : +351.213643514 | Fax : +351.217151168
www.nzytech.com