



Mode d'emploi – Fluide oral CADAVERIQUE

Pour tester des patients vivants à l'aide de ce dispositif, consulter la notice d'utilisation intitulée OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test – Mode d'emploi – Sang total.

**Réservé à une utilisation dans le cadre d'une autorisation d'utilisation d'urgence (EUA)
Pour usage diagnostique *in vitro***

NOM ET INDICATION

L'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test pour fluide oral cadavérique est un immuno-essai à usage unique conçu pour la détection qualitative d'antigènes du virus Ebola-Zaïre (détecté lors de la flambée épidémique de 2014 en Afrique de l'Ouest). Le test est destiné à une utilisation avec des échantillons de fluide oral cadavérique prélevés par écouvillon sur des personnes présentant des facteurs de risque épidémiologique d'infection par le virus Ebola et suspectées d'être mortes de la maladie à virus Ebola. Le test est destiné à faciliter le diagnostic d'une infection par le virus Ebola-Zaïre comme la cause du décès pour éclairer les décisions relatives aux procédures d'inhumation sans risque et dans la dignité pour éviter la transmission du virus Ebola-Zaïre au sein de la collectivité. Le test peut aussi détecter les antigènes du virus Ebola-Soudan et du virus Ebola-Bundibugyo ; toutefois, il ne fait pas la distinction entre ces différentes souches de virus Ebola.

L'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test pour fluide oral cadavérique peut être utilisé avec des tests directs ou en conjonction avec les écouvillons recommandés dans un milieu de transport viral.

L'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test autorisé pour une utilisation avec du fluide oral cadavérique n'est pas destiné à une utilisation comme test diagnostique pour des écouvillons de fluide oral prélevés sur des personnes vivantes. Ce test n'est pas destiné à une utilisation pour le dépistage général d'infections par Ebola, notamment dépistage dans les aéroports ou recherche de contacts sans signes et symptômes d'une infection par Ebola.

L'utilisation de l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test pour fluide oral cadavérique par un personnel correctement équipé, formé et capable de tester une infection par le virus Ebola, dans les laboratoires, les installations et par des équipes d'intervention et de surveillance de terrain agissant sous la direction des autorités de santé publique est autorisée.

Dans un nombre limité de cas, un résultat négatif peut ne pas exclure une infection par le virus Ebola. L'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test a été évalué dans le cadre d'une étude clinique limitée en utilisant des échantillons cliniques rétrospectifs de personnes décédées avec FHV confirmée par RT-PCR.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

La fièvre hémorragique Ebola est une maladie sévère, souvent mortelle, chez l'homme et les primates non humains qui fait des apparitions sporadiques depuis sa première apparition en 1976. Le virus Ebola est un des trois membres d'une famille de virus à ARN appelée « Filoviridae », mais un des deux à causer une maladie humaine. Quatre sous-types de virus Ebola affectant l'homme ont été identifiés : virus Bundibugyo (BDBV), virus Soudan (SUDV), virus Forêt de Taï (TAFV) et virus Ebola (EBOV). La présence d'antigènes du virus Ebola indique que la personne peut être actuellement infectée et capable de transmettre le virus.

L'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test utilise une méthode d'immuno-essai sandwich à flux latéral pour détecter les antigènes du virus Ebola. Les antigènes du virus Ebola sont capturés et visualisés par l'or colloïdal marqué par des anticorps anti-Ebola produisant un trait visible dans la zone de test dans le cas d'un échantillon positif.

PRINCIPES DU TEST

L'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test est un immuno-essai manuel à interprétation visuelle conçu pour la détection qualitative du virus Ebola dans le fluide oral cadavérique humain. L'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test se compose d'un dispositif de test à usage unique et d'un flacon contenant un volume prémesuré de révélateur tamponné. Il consiste en un sachet scellé comportant deux compartiments distincts - un pour chaque composant. L'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test utilise une procédure d'immuno-essai à flux latéral propriétaire.

La bandelette réactive du test (dosage), visible par la fenêtre de résultat du dispositif de test, comprend une série d'éléments : la couche du bloquant, la couche du conjugué, la membrane de nitrocellulose, et enfin la couche absorbante. L'exécution du dosage se fait par hydratation et transport des réactifs alors qu'ils interagissent avec l'échantillon à travers la bandelette par flux latéral chromatographique. La couche du conjugué contient des sels, tampons et un réactif générateur de signal consistant en des anticorps anti-Ebola conjugués à de l'or colloïdal. Les antigènes du virus Ebola dans l'échantillon sont capturés par les anticorps anti-Ebola dans la zone de test (T), puis immobilisés sur la membrane de nitrocellulose et rendus visibles par des anticorps anti-Ebola marqués à l'or colloïdal. La zone de contrôle (C) immobilisée sur la membrane de nitrocellulose est rendue visible par l'or colloïdal garantissant l'élution des composants, l'activité du réactif et la performance adéquate du dispositif.

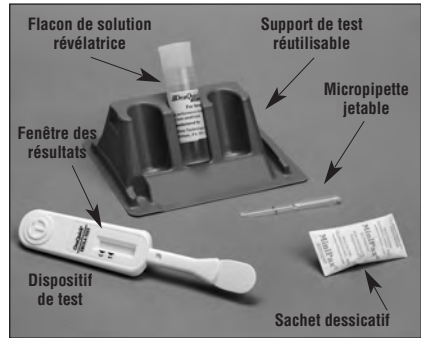
Pour les échantillons de fluide oral cadavérique, il existe deux manières d'effectuer les prélèvements : 1. Passer la spatule sur la limite gingivale ou les tissus du palais mou, au fond de la gorge, puis la plonger directement dans le flacon de révélateur. 2. Passer un écouvillon recommandé sur la limite gingivale ou les tissus du palais mou, au fond de la gorge, puis la plonger dans le milieu de transport viral recommandé. Voir les instructions de prélèvement à la section Procédure avec fluide oral cadavérique – Prélèvement direct ou Procédure avec fluide oral cadavérique – Milieu de transport de cette notice. Lorsque le milieu de transport viral est utilisé, prélever l'échantillon dans le tube de milieu de transport à l'aide de la micropipette en plastique incluse dans la trousse. Transférer l'échantillon au dispositif via l'orifice à échantillon. Insérer le dispositif dans la solution révélatrice. La solution révélatrice facilite la migration capillaire de l'échantillon dans le dispositif et sur la bandelette de dosage. Durant la migration de l'échantillon à travers le dispositif, les antigènes de l'échantillon sont fixés par le réactif colorimétrique or marqué par l'anticorps anti-Ebola présent sur la bandelette de dosage. Si l'échantillon contient des antigènes du virus Ebola, les complexes marqués résultants se fixent à la zone de test (T), entraînant l'apparition d'un trait violet. Si l'échantillon ne contient pas le virus Ebola, aucun complexe marqué ne se fixe à la zone de test et aucun trait n'apparaît. L'intensité de couleur du trait n'est pas directement proportionnelle à la quantité de virus présente dans l'échantillon. L'or colloïdal restant est transporté et fixé dans la zone de contrôle (C). Ce contrôle de

procédure permet de démontrer la migration adéquate du liquide à travers le dispositif. Un trait violet apparaît dans la zone C durant l'exécution de tous les tests valides, que l'échantillon soit positif ou négatif pour le virus Ebola (voir la section « Résultat du test et interprétation » dans cette notice d'utilisation). Les résultats positifs peuvent être interprétés dès que des traits sont visibles dans la zone de test (T) et la zone de contrôle (C). Les résultats négatifs doivent être lus 30 minutes après avoir inséré le dispositif dans le flacon de solution révélatrice.

MATÉRIEL FOURNI

Les trousse OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test sont disponibles dans les configurations d'emballage suivantes :

Composants de la trousse Numéro de référence	Trousse 25 tests 1001-0426	Trousse 100 tests 1001-0427
Sachet compartimenté, chacun contenant : Dispositif de test (1) Sachet dessiccatif (1) Flacon de solution révélatrice (1) (chaque flacon contient 1 ml de sérum physiologique tamponné contenant un agent antimicrobien)	25	100
Supports de test réutilisables	25	100
Micropipettes en plastique	30	110
Notice d'utilisation	1	1
Guide de référence rapide pour fluide oral cadavérique	1	1



Remarque : une notice d'utilisation et un guide de référence rapide supplémentaires pour une utilisation du dispositif avec du sang total (ponction digitale ou veineuse) peuvent être inclus dans la trousse.

MATÉRIEL REQUIS ET DISPONIBLE COMME ACCESSOIRE DE LA TROUSSE

Contrôles de la trousse OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test pour fluide orale 1001-0425

Contrôle positif au virus Ebola (1 flacon, bouchon orange, 0,25 ml)

Contrôle négatif au virus Ebola (1 flacon, bouchon blanc, 0,25 ml)

Notice d'utilisation

OraQuick® Ebola Visual Reference Panel 1001-0428

Seuil de détection du virus Ebola (1 dispositif)

Faiblement positif au virus Ebola (1 dispositif)

Négatif au virus Ebola (1 dispositif)

Notice d'utilisation

Sachet de transfert alu 1001-0494

MATÉRIEL REQUIS, MAIS NON FOURNI

Minuterie ou montre capable de compter 30 minutes

Récipient pour déchets biologiques dangereux

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Tous les tests DOIVENT être réalisés dans les conditions de biosécurité appropriées, conformément aux lois locales, régionales et nationales applicables et aux directives du CDC.
- Les échantillons doivent toujours être traités comme du matériel biologique infectieux et/ou dangereux. Le respect de toutes les précautions universelles possibles est vivement recommandé lors de la manipulation des échantillons avec ce test.
- Utiliser un équipement de protection individuelle (EPI) conforme aux directives actuelles y compris lunettes de sécurité et/ou écrans faciaux, masques ou équipement respiratoire, blouse, bottes et gants jetables. Les utilisateurs réalisant ce test doivent être correctement formés à la manière d'enfiler et de retirer l'équipement de protection individuelle.
- Tout le personnel réalisant les tests DOIT lire et se familiariser avec les documents Universal Precautions¹, Infection Control for Viral Hemorrhagic Fevers in the African Health Care Setting² et Information for Healthcare Worker in the United States (<http://www.cdc.gov/vhf/ebola/healthcare-us/index.html>), selon le pays dans lequel a lieu le test.
- Pour des informations sur le transport d'échantillons suspectés positifs au virus Ebola, se reporter au document CDC Guidance for Collection, Transport, and Submission of Specimens for Ebola Virus Testing (<http://www.cdc.gov/vhf/ebola/healthcare-us/laboratories/specimens.html>).
- Tout le matériel et tous les déchets biologiques dangereux doivent être éliminés conformément aux politiques et lois nationales, régionales et locales.
- Ne pas boire, manger ni fumer là où les échantillons ou les réactifs du test sont manipulés.
- Lire intégralement cette notice d'utilisation avant d'utiliser le produit pour un test sur du fluide oral cadavérique.
- Suivre scrupuleusement ces instructions lors de l'utilisation de l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test sous peine de fausser les résultats.

- L'utilisation de tout milieu de transport viral pour des tests sur cadavre autre que du système de transport viral universel BD pour virus, chlamydia, mycoplasmes et uréaplasmes (220528) ou du système Σ -Virocult® (MW951S) n'a pas été évaluée ni autorisée dans le cadre de cette EUA.
- Cette trousse de test s'utilise uniquement avec des échantillons de sang total obtenus par ponction digitale ou veineuse et des échantillons de fluide oral cadavérique prélevés sur écouvillon. Pour en savoir plus sur les tests sur sang total, voir la notice d'utilisation « sang total ».
- Ce test doit être effectué à des températures comprises entre 15 et 40 °C. S'il est conservé au réfrigérateur, attendre que le sachet compartimenté ait atteint la température d'utilisation (15-40 °C) avant d'effectuer le test.
- Ne pas utiliser ce test au-delà de la date de péremption imprimée sur le sachet compartimenté. Toujours la regarder avant d'effectuer un test.

Précautions de manipulation du dispositif

- Utiliser les pipettes, dispositifs de test et flacons de solution révélatrice une seule fois et mettre au rebut en bonne et due forme (voir Consignes de sécurité). **Ne réutiliser aucun composant du test.**
- Inspecter le sachet compartimenté. Si le sachet compartimenté a été endommagé, le jeter avec son contenu et sélectionner un nouveau sachet compartimenté pour faire le test.
- Ne pas intervertir les dispositifs de test et flacons de solution révélatrice provenant de trousse portant des numéros de lot différents.
- Éviter la contamination microbienne et faire preuve de prudence lors de la manipulation des composants de la trousse.
- Un éclairage adéquat est nécessaire pour la lecture d'un résultat de test.

INSTRUCTIONS DE CONSERVATION

Conservé les OraQuick® Ebola Rapid Antigen Tests non ouverts entre 2 et 30 °C. Ne pas ouvrir le sachet compartimenté avant d'être prêt à effectuer un test. S'il est stocké au réfrigérateur, s'assurer que le sachet compartimenté a atteint la température d'utilisation (15 à 40 °C) avant de l'ouvrir.

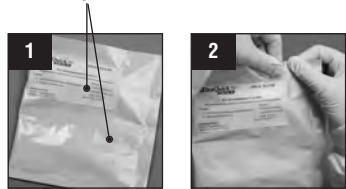
MODE D'EMPLOI

PRÉPARATIFS GÉNÉRAUX

1. Suivre la section Consignes de sécurité de cette notice d'utilisation.
2. Rassembler le matériel nécessaire.
3. Avant utilisation, laisser la température de l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test monter entre 15 et 40 °C. Voir la section Contrôle qualité externe plus loin dans cette notice pour déterminer quand utiliser les contrôles de la trousse.
4. Installer un support de test OraQuick® dans l'espace de travail, en utilisant seulement le support fourni.
5. Ouvrir les deux compartiments du sachet compartimenté OraQuick® (« sachet ») en déchirant au niveau des encoches en haut, de chaque côté du sachet (*photos 1 et 2*).
6. Retirer le flacon de solution révélatrice (« flacon ») du sachet. Tenir le flacon fermement dans la main. Déboucher le flacon avec précaution en imprimant un mouvement de va-et-vient au bouchon tout en tirant dessus. Poser le bouchon sur la protection de l'espace de travail.
7. Glisser le flacon par le haut dans l'un des logements du support. **NE PAS** insérer le tube dans le logement par l'avant en forçant sous peine d'entraîner des projections. S'assurer que le flacon est poussé jusqu'au fond du logement du support (*photo 3*).

REMARQUE : NE PAS couvrir les deux trous à l'arrière du dispositif avec des étiquettes ou un objet quelconque sous peine de fausser le résultat (*photo 4*).

Deux compartiments



Deux trous ne devant pas être couverts

PROCÉDURE AVEC FLUIDE ORAL CADAVÉRIQUE –

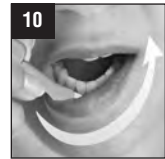
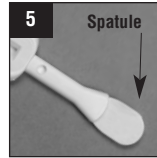
PRÉLÈVEMENT DIRECT

ÉTAPE 1 : PRÉLÈVEMENT

1. Retirer le dispositif du sachet. **NE PAS** toucher la spatule (photo 5). S'assurer qu'un sachet dessiccatif accompagne le dispositif (photo 6). Dans le cas contraire, jeter le tout et se procurer un nouveau sachet compartimenté pour le test.
2. Ouvrir la bouche du cadavre et prélever un échantillon au fond de la cavité buccale en passant la spatule sur l'arrière du palais mou (photos 7 et 8). Si un prélèvement de la sorte n'est pas possible en raison de la rigidité cadavérique, le fluide oral cadavérique peut être prélevé au niveau de la limite gingivale. Pour prélever un échantillon au niveau de la limite gingivale, passer la spatule une fois sur le pourtour de la limite gingivale supérieure et une fois sur le pourtour de la limite gingivale inférieure (photos 9 et 10).

REMARQUE : Pour cette procédure, les deux faces de la spatule peuvent être utilisées.

3. Si le dispositif ne peut pas être placé immédiatement dans le flacon de solution révélatrice pour le test (Étape 2 ci-dessous), il pourra être placé dans un sachet de transfert alu fourni dans la trousse. **Seuls des sachets fournis par OraSure Technologies comme accessoire sous le numéro de référence 1001-0494 doivent être utilisés pour garantir la stabilité de l'échantillon.**
4. Le sachet de transfert scellé doit être placé dans une glacière contenant de la glace bleue (ou un équivalent), dans laquelle il peut être conservé pendant 4 heures maximum avant le test.



ÉTAPE 2 : TEST

1. Pour tester des échantillons qui étaient conservés sur de la glace bleue, enlever le sachet de transfert de la glacière et le laisser monter à température ambiante pendant 15 minutes avant le test.
2. Plonger la spatule du dispositif à fond dans le flacon (photo 11). S'assurer que la spatule touche le fond du tube. La fenêtre de résultat du dispositif doit être tournée vers l'administrateur du test (photo 12).
3. Commencer à chronométrer le test (photo 13). **NE PAS** enlever le dispositif du flacon durant le test. Un fluide rouge apparaîtra et remontera dans la fenêtre de résultat. Ce fluide rouge disparaîtra progressivement durant le développement du test (photo 14). Les résultats positifs peuvent être interprétés dès que des traits sont visibles dans la zone de test (T) et la zone de contrôle (C). Les résultats négatifs doivent être lus 30 minutes après avoir inséré le dispositif dans le flacon de solution révélatrice.
4. Voir la section Résultat du test et interprétation dans cette notice d'utilisation.



PROCÉDURE AVEC FLUIDE ORAL CADAVÉRIQUE –

MILIEU DE TRANSPORT

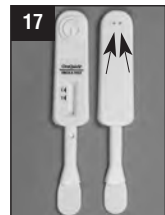
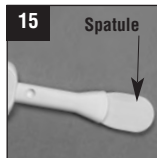
ÉTAPE 1 : PRÉLÈVEMENT

1. Les échantillons de fluide oral cadavérique doivent être prélevés et manipulés en suivant la notice du milieu de transport viral/écouvillon. Une fois un échantillon prélevé sur spatule, il doit être plongé dans le flacon de milieu de transport. Les échantillons doivent être conservés entre 2 et 25 °C pendant leur transport jusqu'au laboratoire. Si l'échantillon ne peut pas être testé sous 48 heures après le prélèvement, le conserver à -70 °C jusqu'au moment du test.

ÉTAPE 2 : TEST

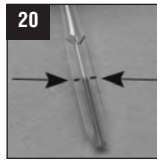
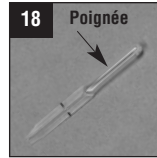
1. Avant le test, agiter doucement le tube de milieu de transport en le retournant plusieurs fois pour garantir un échantillon homogène.
2. Retirer le dispositif du sachet. **NE PAS** toucher la spatule (photo 15). Placer le dispositif sur une surface plane propre. **(Remarque : pour que le tampon de prélèvement reste propre, éviter tout contact avec des surfaces de laboratoire ou d'autres surfaces, y compris les mains de l'opérateur)** S'assurer qu'un sachet dessiccatif est inclus avec le dispositif (photo 16). Dans le cas contraire, jeter le tout et se procurer un nouveau sachet compartimenté pour le test.

REMARQUE : NE PAS couvrir les deux trous à l'arrière du dispositif avec des étiquettes ou un objet quelconque sous peine de fausser le résultat (photo 17).



Deux trous ne devant pass être couverts

- Saisir une micropipette inutilisée par sa poignée (*photo 18*). Mettre la micropipette dans le tube de milieu de transport et aspirer progressivement l'échantillon. Le remplissage de la micropipette se fait automatiquement ; ne jamais la pincer durant le prélèvement (*photo 19*). S'assurer que la micropipette est remplie d'échantillon jusqu'au trait indicateur et qu'aucune bulle n'est présente (*photo 20*). Si une bulle est présente, jeter l'échantillon recueilli et en prélever un autre à l'aide d'une nouvelle micropipette.
- Déposer l'échantillon cadavérique dans l'orifice à échantillon du dispositif en appuyant la micropipette directement au-dessus de cet orifice (*photo 21*).
- Plonger la spatule du dispositif à fond dans le flacon (*photo 22*). S'assurer que la spatule touche le fond du tube. La fenêtre de résultat du dispositif doit être tournée vers l'administrateur du test (*photo 23*).
- Commencer à chronométrer le test (*photo 24*). **NE PAS** enlever le dispositif du flacon durant le test. Un fluide rouge apparaîtra et remontera dans la fenêtre de résultat. Ce fluide rouge disparaîtra progressivement durant le développement du test (*photo 25*). Les résultats positifs peuvent être interprétés dès que des traits sont visibles dans la zone de test (T) et la zone de contrôle (C). Les résultats négatifs doivent être lus 30 minutes après avoir inséré le dispositif dans le flacon de solution révélatrice.
- Voir la section *Résultat du test et interprétation* dans cette notice d'utilisation.



NETTOYAGE GÉNÉRAL APRÈS LE TEST

- Jeter le matériel de test utilisé dans un récipient pour déchets biologiques dangereux. Tout le matériel et tous les déchets biologiques dangereux doivent être éliminés conformément aux politiques et lois nationales, régionales et locales.
- Changer de gants entre deux tests pour éviter toute contamination. Jeter les gants utilisés dans un récipient pour déchets biologiques dangereux.
- Utiliser une solution fraîchement préparée d'eau de Javel à 10 % pour nettoyer les projections et autres déversements.

PROCÉDURES DE CONTRÔLE QUALITÉ

Contrôles intégrés

L'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test inclut un contrôle de procédure qui démontre la validité du dosage. Un trait violet dans la zone de contrôle (C) de la fenêtre de résultat indique que le fluide a correctement migré à travers le dispositif de test. Le trait de contrôle apparaît sur tous les tests valides, que l'échantillon soit positif ou négatif aux antigènes du virus Ebola. (Voir la section *Résultat du test et interprétation* dans cette notice d'utilisation.)

Contrôle qualité externe

Les contrôles de la trousse OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test doivent être utilisés avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Ces contrôles sont spécialement formulés et fabriqués pour garantir la performance du test et ils permettent de vérifier si le test est correctement réalisé et ses résultats bien interprétés. Le contrôle positif au virus Ebola produira un résultat de test positif et a été fabriqué pour produire un trait Test (T) de faible intensité. Le contrôle négatif au virus Ebola produira un résultat de test négatif (voir la section *Résultat du test et interprétation* dans cette notice d'utilisation). L'utilisation de réactifs de contrôle de trousse fabriqués par un tiers risque de ne pas produire les résultats requis et, par conséquent, ne sera pas conforme aux exigences d'un programme d'assurance qualité adéquat pour l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Si les contrôles externes ne produisent pas les résultats escomptés, il n'est pas conseillé de tester le cadavre. Si les réactifs de contrôle de la trousse ne donnent pas les résultats escomptés, contacter le service clientèle OraSure Technologies.

Doser les contrôles externes dans les cas suivants :

- Tout nouvel opérateur avant d'effectuer un test sur des échantillons patient,
- À l'ouverture d'un nouveau lot de trousse de tests,
- À chaque réception d'un nouvel envoi de trousse de tests,
- Si la température de la zone de stockage de la trousse de test se situe en dehors de la plage 2–30 °C,
- Si la température de la zone de test se situe en dehors de la plage 15–40 °C et
- À intervalles périodiques, comme stipulé dans l'établissement utilisateur.

Procédure de test pour les contrôles externes :

Pour les instructions complètes d'utilisation de ces réactifs, se reporter à la notice d'utilisation des contrôles de la trousse OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Il incombe à chaque laboratoire d'utiliser l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test pour sang total afin de définir un programme d'assurance qualité adéquat capable de garantir la performance du dispositif dans ses conditions d'utilisation et lieux spécifiques.

Qualification des nouveaux opérateurs

Le panneau de référence visuelle OraQuick® Ebola est disponible séparément et s'utilise avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Le panneau de référence visuelle OraQuick® Ebola inclut les résultats de test potentiels, y compris négatif, faiblement positif et seuil de détection du dispositif. Les nouveaux opérateurs doivent pouvoir interpréter correctement tous les dispositifs dans le panneau de référence visuelle OraQuick® Ebola avant d'utiliser l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test avec des échantillons patient. Une impossibilité de lecture à faible intensité peut se solder par une impossibilité de détection des échantillons près du seuil de détection de l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test pour sang total et engendrer des faux négatifs.

RÉSULTAT DU TEST ET INTERPRÉTATION

Les résultats positifs peuvent être interprétés dès que des traits sont visibles dans la zone de test (T) et la zone de contrôle (C). Les résultats négatifs doivent être lus 30 minutes après avoir inséré le dispositif dans le flacon de solution révélatrice.

NÉGATIF

Un test est **Négatif** si :

Un trait violet apparaît dans la zone C et AUCUN trait n'apparaît à côté de la zone T (*photo 26*)

Un résultat de test négatif est interprété comme la non-détection d'antigènes du virus Ebola dans l'échantillon. Le cadavre est présumé négatif pour les antigènes du virus Ebola.

Toutefois, un résultat négatif n'exclut pas une infection par le virus Ebola.

POSITIF

Un test est **Positif** si :

Un trait violet apparaît dans la zone C et un trait violet A apparaît dans la zone T. La couleur des traits peut varier d'intensité. Le test est positif, même si ces traits sont de faible intensité (*photos 27, 28 et 29*).

Un résultat de test positif est interprété comme la détection d'antigènes du virus Ebola dans l'échantillon. Le cadavre est présumé positif pour les antigènes du virus Ebola.

Conformément aux recommandations du CDC et de l'OMS, les cadavres avec un résultat positif doivent faire l'objet de procédures d'inhumation sans risque et dans la dignité et les personnes ayant été en contact avec un cadavre positif au virus Ebola doivent être identifiées. Des tests de suivi des contacts possibles doivent être réalisés conformément aux « DIRECTIVES RELATIVES AUX SITUATIONS D'URGENCE. Mise en œuvre et gestion de la recherche des contacts pour la maladie à virus Ebola » (http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/185258/1/WHO_EVD_Guidance_Contact_15.1_eng.pdf?ua=1) publiées par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) et les Centers for Disease Control (CDC).

NON VALIDE

Un test est **non valide** dans l'un des cas suivants :

- **AUCUN** trait violet n'apparaît dans la zone C (*photo 30*) ou
- Un fond violet dans la fenêtre de résultat rend la lecture difficile après 30 minutes (*photo 31*) ou
- Un trait partiel quelconque apparaît sur un côté de la zone C ou T (*photos 32 et 33*).

Un résultat de test **non valide** indique un problème durant le test, soit lié à l'échantillon, soit lié au dispositif de test. **Un résultat non valide ne peut pas être interprété. Un résultat de test non valide doit être répété avec un échantillon frais et un nouveau dispositif. Si un résultat de test valide ne peut toujours pas être obtenu après une reprise du test, contacter le service clientèle OraSure Technologies.**



LIMITES DU TEST

1. Il est possible que le développement des échantillons faiblement positifs prenne plus longtemps et que 30 minutes complètes soient nécessaires avant l'apparition d'un trait dans la zone T. Par conséquent, tous les résultats de test négatifs doivent être lus 30 minutes après l'insertion du dispositif dans le flacon de solution révélatrice. Un résultat de test négatif ne doit pas être communiqué avant la lecture du dispositif à 30 minutes.
2. La lecture de tout résultat de test au-delà de 30 minutes risque de fausser les résultats.
3. La performance clinique de ce dispositif a été évaluée avec un nombre limité d'échantillons de fluide oral cadavérique rétrospectifs.
4. Toutefois, des résultats négatifs n'excluent pas une infection par le virus Ebola.
5. La réactivité croisée potentielle de l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test avec les vaccins et médicaments développés pour Ebola n'a pas été évaluée. Les échantillons de cadavres ayant reçu des médicaments ou vaccins contre le virus Ebola pourront présenter des faux positifs ou d'autres résultats de test laissant l'opérateur perplexe.
6. La réactivité croisée avec des organismes liés au fluide oral n'a pas été évaluée et peut fausser les résultats.

PERFORMANCE CLINIQUE DU TEST POUR FLUIDE ORALE CADAVÉRIQUE

Au total, 277 échantillons cadavériques rétrospectifs (prélevés dans un milieu de transport viral) ont été testés dans une étude réalisée par l'Organisation mondiale de la Santé ; tous les échantillons ont été testés au départ avec le test RealStar Filovirus Screen. Avant d'être testé avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test, tous les échantillons ont été une nouvelle fois testés avec le dosage Xpert Ebola (Cepheid) pour confirmer le résultat PCR Ebola initial.

Au total, 222 échantillons négatifs au test RT-PCR RealStar Filovirus Screen ont été testés avec le dosage Xpert Ebola (Cepheid). Sur ces 222 échantillons, 29 ont obtenu un résultat non valide, peut-être en raison d'un échec du contrôle interne cible du gène humain dû à la qualité médiocre des échantillons, et ont été exclus. Par conséquent, au total 193 échantillons PCR négatifs ont été inclus à l'évaluation des tests diagnostiques rapides (RDT).

Sur les 55 échantillons RealStar Filovirus Screen RT-PCR positifs testés avec le dosage Xpert Ebola (Cepheid), 51 étaient positifs ; quant aux 3 échantillons négatifs et à l'échantillon non valide ont été exclus. Sur les 51 échantillons positifs, 16 ont été testés de manière conforme aux instructions d'utilisation et ont par conséquent été exclus de l'étude. Au total, 35 échantillons positifs ont été inclus dans l'évaluation de la performance.

Utilisant le dosage Xpert Ebola (Cepheid) comme dosage comparatif, la performance de l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test est présentée dans le tableau suivant :

	Dosage Xpert Ebola (Cepheid)	
	Pourcentage de concordance positif (PPA) (IC à 95 %)	Pourcentage de concordance négatif (NPA) (IC à 95 %)
OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test	34/35 97,1% (85,5 a 99,5)	193/193 100,00% (98,1 a 100)

Remarque : l'étude incluait aussi le test de 16 échantillons dilués 1:4 dans de l'eau distillée. L'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test a correctement détecté comme positifs 14 de ces 16 échantillons. Les deux échantillons qui ont été incorrectement détectés (négatifs) présentaient des valeurs PCR Ct élevées représentatives de concentrations en virus Ebola inférieures au seuil de détection du dosage.

i. Étude du CDC – Sierra Leone

Le CDC, en collaboration avec le Ministère de la Santé (MOH), a mené une évaluation de terrain des nouveaux tests diagnostiques rapides pour la maladie à virus Ebola (Field Evaluation of New Rapid Diagnostic Tests for Ebola Virus Disease) en Sierra Leone qui incluait les tests de cadavres. Au total, 111 échantillons ont été testés avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test conformément à la notice pour fluide oral cadavérique en utilisant la méthode de prélèvement direct. Les 111 échantillons testés par des RDT OraQuick® étaient tous négatifs avec l'amplification PCR (les 50 échantillons prélevés à Kenema ont été testés à l'aide du dosage Trombley PCR sur le Cepheid Smartcycler II). Trois échantillons ont produit initialement des résultats non valides et ont à nouveau été testés conformément à la notice ; deux de ces échantillons ont eu un résultat négatif. Un des résultats non valides n'a pas pu être résolu par un nouveau test dans la mesure où il s'est soldé par un autre résultat non valide et a par conséquent été exclu du calcul de la performance. Le tableau suivant inclut un résumé des données d'étude de terrain :

Date de test	Région	Testé par RDT	Réactif	Non réactif	Non valide	PCR
10 janvier 2016	Kenema	50	0	50 ^A	0	50 ^B
6 au 13 janvier 2016	Quest	61	1 ^C	59 ^D	1 ^D	61
	Total	111	1	109	1	111

- A) Le trait de contrôle sur le dispositif OraQuick® n'est pas apparu et le test a été interprété comme non valide. Lorsqu'il a été répété, le test OraQuick® était non réactif. Des échantillons PCR ont été prélevés sur écouvillon et se sont avérés négatifs par PCR.
- B) La PCR est actuellement effectuée en conjonction avec les tests OraQuick® pour tous les cadavres. Les 111 échantillons testés par des RDT OraQuick® RDT étaient tous négatifs avec la PCR (les 111 échantillons prélevés à Kenema ont été testés à l'aide du dosage Trombley PCR sur le Cepheid Smartcycler II).
- C) Les résultats OraQuick® étaient réactifs mais la confirmation par PCR était négative.
- D) Deux dispositifs OraQuick® initiaux ont été interprétés comme non valides. Lors du test répété avec OraQuick®, un échantillon était non réactif et l'autre non valide. L'échantillon deux fois non valide a été testé par PCR et s'est avéré négatif.

Cette étude a donné un pourcentage de concordance négatif pour l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test de 109/110 = 99,1 % avec un intervalle de confiance à 95 % compris entre 95 et 100 %.

ii. Étude du CDC – Guinée

En Guinée, 334 échantillons (écouvillons oraux) ont été prélevés sur des cadavres et testés en parallèle avec la PCR et l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Les échantillons ont été prélevés entre juin et août 2015. Tous les échantillons étaient négatifs avec la PCR et l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Cette étude a donné un pourcentage de concordance négatif pour l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test de 334/334 = 100 % avec un intervalle de confiance à 95 % compris entre 98,9 et 100 %.

iii. Étude du CDC – Libéria

Par ailleurs, 97 échantillons de cadavres au Libéria ont été testés avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Les échantillons ont été testés en parallèle avec le PCR EUA du CDC ou du DOD. Les échantillons ont été testés entre mai et juin 2015 et testés avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test conformément à la notice pour fluide oral cadavérique. Tous les échantillons testés étaient négatifs par PCR ; trois de ces échantillons PCR négatifs ont donné un résultat de test non valide avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Les échantillons n'ont pas été retestés avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test et ont par conséquent été exclus du calcul de performance ci-dessous. Tous les autres échantillons PCR négatifs ont également donné un résultat négatif avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Cette étude a donné un pourcentage de concordance négatif pour l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test de 94/94 = 100 % avec un intervalle de confiance à 95 % compris entre 96,1 et 100 %.

SEUIL DE DÉTECTION AVEC DU FLUIDE ORAL CADAVERIQUE

Une étude de détermination d'un intervalle de seuil de détection a été réalisée avec du fluide oral recueilli avec le système de transport universel BD (3 ml de milieu), le système de transport Σ -Virocult (1 ml de milieu) et directement prélevé avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Pour un prélèvement direct avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test, l'antigène VP40 recombinant a été directement ajouté sur le tampon de prélèvement de l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test après prélèvement du fluide oral et avant immersion dans le flacon de solution révélatrice. L'antigène VP40 recombinant a été ajouté sur l'écouvillon du système de transport respectif après prélèvement du fluide oral et avant immersion dans le milieu de transport. Au total, 20 μ l ont ensuite été placés dans l'orifice à échantillon de l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test avant immersion du dispositif dans le flacon de solution révélatrice.

Le seuil de détection provisoire pour du fluide oral directement prélevé avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test était de 0,53 ng/test avec une concentration en antigène VP40 dans le fluide oral de 7,6 ng/ml. Cette concentration provisoire a été confirmée comme seuil de détection par 19 réplicats sur 20 testant positifs avec le même antigène VP40 recombinant à cette concentration.

Le seuil de détection provisoire pour du fluide oral prélevé avec le système de transport universel BD était de 0,217 ng/test avec une concentration en antigène VP40 dans le fluide oral égale à 465 ng/ml. Cette concentration provisoire a été confirmée comme seuil de détection par 20 réplicats sur 20 testant positifs avec le même antigène VP40 recombinant à cette concentration.

Le seuil de détection provisoire pour du fluide oral prélevé avec le système de transport Σ -Virocult® était de 3,2 ng/test avec une concentration en antigène VP40 dans le fluide oral égale à 3 200 ng/ml. Cette concentration provisoire a été confirmée comme seuil de détection par 20 réplicats sur 20 testant positifs avec le même antigène VP40 recombinant à cette concentration.









Dispositif de prélèvement	Seuil de détection/test [Quantité de rAG par test]	Seuil de détection [Concentration en rAG dans le fluide oral^B]
Prélèvement direct OraQuick	0,53 ng/test ^A	7,6 ng/ml
Système de transport viral universel BD pour virus	0,217 ng/test	465 ng/ml
Système de transport Σ -Virocult®	3,20 ng/test	3200 ng/mL

^A L'antigène recombinant, le virus actif et le virus inactivé ont été testés en parallèle avec l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test pour sang total. Avec du sang total, le seuil de détection de 0,53ng/test correspondait à un seuil de détection de $1,64 \times 10^6$ TCID50/ml

^B La concentration considérée comme seuil de détection dans le fluide oral a été calculée en utilisant les volumes moyens de fluide oral qui sont absorbés par chacun des écouvillons/dispositifs (à savoir, 70 μ l pour la spatule OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test, 70 μ l pour l'écouvillon BD dilué dans 3 ml de milieu de transport viral et 50 μ l pour l'écouvillon Σ -Virocult® dilué dans 1 ml de milieu de transport viral) et le volume consécutif de 20 μ l de milieu de transport viral qui a été transféré au dispositif.

BIBLIOGRAPHIE

1. CDC, Universal Precautions for Prevention of Transmission of Human Immunodeficiency Virus, Hepatitis B Virus, and other Bloodborne Pathogens in Health-Care Settings. *MMWR* 1988; 37(24):377-388.
2. Infection Control for Viral Haemorrhagic Fevers in the African Health Care Setting. Centers for Disease Control and Prevention and World Health Organization. Atlanta, Centers for Disease Control and Prevention, 1998: 1-198. WHO, September 2014: Ref: WHO/HIS/SDS/2014.4.

EXPLICATION DES SYMBOLES	
 Code de lot	 Dispositif médical pour diagnostic <i>in vitro</i>
 Numéro de référence	 Fabricant
 Attention, consulter les documents connexes	 Numéro de référence
 Utiliser avant le	 Température limite

Pour un support technique ou un service clientèle aux États-Unis, appeler le (800) ORASURE (800-672-7873).
Clients en dehors des États-Unis : appeler le +(001) 610 882 1820 ou aller sur le site www.OraSure.com



OraSure Technologies, Inc.

220 East First Street
Bethlehem, PA 18015 États-Unis
(800) ORASURE (800-672-7873)
(610) 882-1820
www.OraSure.com

Les réactifs critiques de l'OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test sont fournis par :

- le Viral Hemorrhagic Fever Consortium ou « VHFC » (www.VHFC.org). Les réactifs VHFC ont été développés avec le soutien du National Institute of Allergy and Infectious Diseases of the National Institutes of Health (« NIH/NIAID »). Les membres du VHFC, Autoimmune Technologies LLC et Zalgen Labs LLC, fabriquent les réactifs critiques.
- le Biological Defense Research Directorate du United States Navy Medical Research Center (NMRC).