



OraSure Technologies, Inc.

Item# 3001-2812-70

rev. 10/24

ENG



## OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test Customer Letter

Dear Customer,

Thank you for deciding to use the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. The sale, distribution, and use of this product is restricted as described in the product insert. By purchasing this device, you are doing so as an agent of a clinical laboratory and agree that you or any of your consignees will abide by the following restrictions on the sale, distribution, and use of the device:

- **U.S. hospitals or clinical laboratories concerned about a patient with potential Ebola virus exposure should contact their local and/or state public health authorities. These agencies will work with CDC to determine whether a patient is or is not a person under investigation (PUI); only PUI should be tested for Ebola.**
- **Follow CDC recommendations on collection, testing and transport when testing with the OraQuick Ebola Rapid Antigen Test.**
- **Testing with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test for whole blood and cadaveric oral fluid MUST not be performed unless the patient meets clinical and epidemiologic criteria for testing suspect specimens.**
- **The test is not intended for general Ebola infection screening, such as airport screening or contact tracing of individuals without signs and symptoms of Ebola infection.**
- **Sale of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test for whole blood and cadaveric oral fluid is restricted to laboratory professionals or healthcare workers that are adequately equipped, trained, and capable of such testing.**
  - **These laboratories and facilities MUST have a process in place for reporting test results to health care professionals and relevant public health authorities, as appropriate.**
  - **All personnel from laboratories and facilities using the assay MUST be appropriately trained on the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test and use appropriate laboratory and personal equipment when handling this kit.**
- **Negative results do not preclude Ebola virus infection and should not be used as the sole basis for patient management decisions. The definitive identification of Ebola virus disease requires additional testing and confirmation procedures in consultation with public health or other authorities for whom reporting is required. The diagnosis of Ebola virus disease must be made based on history, signs, symptoms, exposure likelihood, and other laboratory evidence in addition to the identification of Ebola virus.**
- **Read times below 30 minutes significantly affect performance of the device with low positive samples. It is therefore critical that - unless samples are clearly positive - samples are not read prior to the 30 minutes. Reducing the read time below 30 minutes can prevent correct identification of low positive samples. Therefore, all negative result MUST be read at 30 minutes.**

**READER PROFICIENCY:** As a laboratory or facility planning to use the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test, you are required to use the OraQuick® Ebola Kit Controls and the OraQuick® Ebola Visual Reference Panel. All new operators **MUST** be able to correctly interpret all devices provided within the OraQuick® Ebola Visual Reference Panel prior to using the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. The clinical performance of this device was established based on an operator's ability to read visual intensities at the "T" line at all levels including very weak bands representing low antigen levels.

Refer to the package insert for the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test for warnings, precautions, information on how the test works, how to use the device, interpretation of the results, and limitations of the test, the meaning of a positive or negative result, or for circumstances in which the OraQuick® Ebola Kit Controls should be run.

If you have any questions, please call (800) ORASURE (800-672-7873) within the United States or +(001) 610-882-1820 for outside the United States. You can also go to **www.OraSure.com**.

Sincerely,

OraSure Technologies Inc.

BLANK PAGE



## Instructions for Use

For *in-vitro* diagnostic use

### COMPLEXITY: High

### NAME AND INTENDED USE

The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test is an *in vitro* diagnostic single-use immunoassay for the qualitative detection of antigens from viruses within the *Ebolavirus* genus but does not differentiate between these viruses. Testing with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test must only be performed when public health authorities have determined the need for this test. Testing for Ebola Virus Disease (EVD) must be performed in accordance with current guidelines provided by the appropriate public health authorities that address appropriate biosafety conditions, interpretation of test results, and coordination of testing, results and patient management with public health authorities. The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test is intended for use with specimens from:

- individuals with epidemiological risk factors with signs and symptoms of EVD or
- recently deceased individuals with epidemiological risk factors who are suspected to have died of EVD.

EVD is a nationally notifiable condition and must be reported to public health authorities in accordance with local, state, and federal regulations.

The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test is intended for use with venipuncture whole blood and fingerstick whole blood specimens as an aid in diagnosis of EVD in patients suspected of and with signs or symptoms consistent with EVD who have epidemiological risk factor(s) for *Ebolavirus* exposure (e.g., contact with a known or suspected case, travel to a geographic location at a time when *Ebolavirus* transmission was known or suspected to have occurred). Performance of the device with *Ebolavirus* positive fingerstick whole blood was established in a non-human primate model.

The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test is intended for use with cadaveric oral fluid collected from recently deceased individuals with epidemiological risk factors who are suspected to have died of EVD. Cadaveric oral fluid should be collected directly with the device or collected with oral swabs in viral transport media. The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test is intended as an aid in the determination of EVD as the cause of death to inform decisions on safe handling of cadavers to prevent disease transmission.

The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test results are presumptive, definitive identification of EVD requires performing additional testing and confirmation procedures in consultation with public health and/or other authorities to whom reporting is required.

Negative results were observed in individuals with low levels of circulating virus, therefore negative results do not preclude infection with viruses within the *Ebolavirus* genus.

The level of *Ebolavirus* antigens that would be present in EVD clinical specimens from individuals with early systemic infection is unknown. Test performance of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test is associated with the level of *Ebolavirus* antigens in the patient; therefore, the test is not intended for use in an asymptomatic population for mass-screening purposes (e.g., as the sole means of EVD control at airports or border-crossings) or for testing of individuals at risk of exposure without observable signs of infection.

The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test is intended for use by experienced personnel who have documented device specific training offered by OraSure Technologies Inc., training in the correct use of recommended personal protective equipment (PPE) and expertise in infectious disease diagnostic testing, including the safe handling of clinical specimens potentially containing *Ebolavirus*. The test is intended for use by laboratory professionals or healthcare workers who have demonstrated availability of biosafety equipment, access to patient containment facilities, and established procedures (e.g., SOP) for coordinating testing, results and patient management with public health authorities consistent with state, local and federal recommendations and guidelines.

### SPECIAL LIMITATIONS (Please see additional Limitations on page 8)

- U.S. hospitals or clinical laboratories concerned about a patient with potential Ebola virus exposure should contact their local and/or state public health authorities. These agencies will work with CDC to determine whether a patient is or is not a person under investigation (PUI); only PUI should be tested for Ebola.
- Follow CDC recommendations on collection, testing and transport when testing with the OraQuick Ebola Rapid Antigen Test.
- Testing with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test for whole blood and cadaveric oral fluid **MUST** not be performed unless the patient meets clinical and epidemiologic criteria for testing suspect specimens.
- The test is not intended for general Ebola infection screening, such as airport screening or contact tracing of individuals without signs and symptoms of Ebola infection.
- Sale of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test for whole blood and cadaveric oral fluid is restricted to laboratory professionals or healthcare workers that are adequately equipped, trained, and capable of such testing.
  - These laboratories and facilities **MUST** have a process in place for reporting test results to health care professionals and relevant public health authorities, as appropriate.
  - All personnel from laboratories and facilities using the assay **MUST** be appropriately trained on the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test and use appropriate laboratory and personal equipment when handling this kit.
- Negative results do not preclude Ebola virus infection and should not be used as the sole basis for patient management decisions. The definitive identification of Ebola virus disease requires additional testing and confirmation procedures in consultation with public health or other authorities for whom reporting is required. The diagnosis of Ebola virus disease must be made based on history, signs, symptoms, exposure likelihood, and other laboratory evidence in addition to the identification of Ebola virus.

## SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Ebola hemorrhagic fever is a severe, often-fatal disease in humans and nonhuman primates that has appeared sporadically since its initial recognition in 1976. Ebola virus is one of three genera of the family of RNA viruses called the Filoviridae. There are four species of Ebola virus affecting humans: Bundibugyo virus (BDBV), Sudan virus (SUDV), Tai Forest virus (TAFV), and Ebola virus (EBOV) strains. The presence of Ebola virus antigens indicate that the individual may be currently infected and capable of transmitting the virus.

The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test utilizes a sandwich capture lateral flow immunoassay method to detect Ebola virus antigens. Ebola antigens are captured and visualized by colloidal gold labeled with Ebola antibodies generating a visible line in the test zone for a positive sample.

## PRINCIPLES OF THE TEST

The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test is a manually performed, visually read immunoassay for the qualitative detection of Ebola virus in human venipuncture whole blood, fingerstick whole blood, and cadaveric oral fluid. The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test is comprised of both a single-use test device and vial containing a pre-measured amount of a buffered developer solution. The test consists of a sealed pouch with two separate compartments for each component. The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test utilizes a proprietary lateral flow immunoassay procedure.

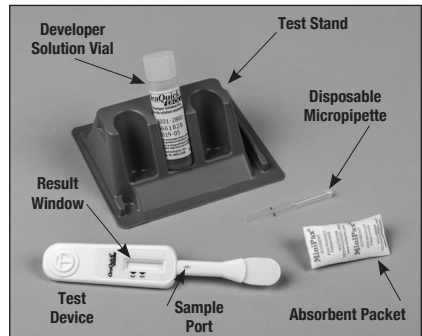
The assay test strip, which can be viewed through the test device result window, is comprised of a series of components: the blocker pad, the conjugate pad, the nitrocellulose membrane, and finally the absorbent pad. The performance of the assay occurs by hydration and transport of reagents as they interact with the specimen across the strip via chromatographic lateral flow. The conjugate pad contains salts, buffers, and a signal generating reagent consisting of Ebola antibodies conjugated to colloidal gold. Ebola antigens in the sample are captured by Ebola antibodies at the Test (T) Zone, which become immobilized on the nitrocellulose membrane and visualized by colloidal gold labeled with Ebola antibodies. The Control (C) Zone immobilized onto the nitrocellulose membrane is visualized by colloidal gold ensuring component elution, reagent activity, and adequate device performance.

A fingerstick or venipuncture whole blood specimen is collected using a plastic micropipette or calibrated lab pipette and transferred to the device, followed by the insertion of the device into the developer vial. For cadaveric oral fluid specimens, there are two ways to collect specimens: 1.) swab the gum line or the soft pallet tissue in the back of the throat with the flat pad of the device and then insert the device directly into the developer solution or 2.) swab the gum line or the soft pallet tissue in the back of the throat with a recommended swab and insert into recommended viral transport media. When using viral transport media, the specimen is collected from the transport media tube using a calibrated lab pipette and transferred to the device, followed by the insertion of the device into the developer vial. The developer solution facilitates the capillary flow of the specimen into the device and onto the assay strip. As the specimen flows through the device, antigens from the specimen are bound by the Ebola antibody labeled gold colorimetric reagent present on the assay strip. If the specimen contains Ebola antigens, the resulting labeled complexes bind to the Test (T) Zone resulting in a red to purple line. If the specimen does not contain Ebola virus, the labeled complexes do not bind at the Test Zone and no line is observed. The intensity of the line color is not directly proportional to the amount of virus present in the specimen. The remaining colloidal gold is transported and bound to the Control (C) Zone. This procedural control serves to demonstrate that the fluid has migrated adequately through the device. A red to purple line will appear at the Control (C) Zone during the performance of all valid tests whether or not the sample is positive or negative for Ebola virus (refer to the *Test Result and Interpretation of Test Result* section on page 8 of in this package insert). Positive results may be interpreted as soon as red to purple lines are visible at the Test (T) Zone and Control (C) Zone. Negative results MUST be read 30 minutes after inserting the device into the Developer Vial.

## MATERIALS PROVIDED

**The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test Kit is available in the following packaging configuration:**

| Components of Kit<br>Catalog Number                                                                                                                                                                  | 25 Count Kit<br>1001-0509 |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|
| Divided Pouch<br>Each containing:<br>Test Device (1)<br>Absorbent Packet (1)<br>Developer Solution Vial (1)<br>(each vial contains 1.0 mL of a buffered saline solution with an antimicrobial agent) | 25                        |
| Test Stands                                                                                                                                                                                          | 25                        |
| Plastic Micropipettes                                                                                                                                                                                | 30                        |
| Instructions for Use                                                                                                                                                                                 | 1                         |
| Cadaveric Oral Fluid Quick Reference Guide                                                                                                                                                           | 1                         |
| Whole Blood Quick Reference Guide                                                                                                                                                                    | 1                         |
| Fact Sheet for Patients                                                                                                                                                                              | 30                        |
| Fact Sheet for Relatives and Caregivers                                                                                                                                                              | 30                        |



## MATERIALS REQUIRED AND AVAILABLE AS AN ACCESSORY TO THE KIT

### OraQuick® Ebola Rapid Antigen Kit Controls 1001-0508

Ebola Positive Control (1 vial, orange cap, 0.25 mL)

Ebola Negative Control (1 vial, white cap, 0.25 mL)

Package Insert

## OraQuick® Ebola Visual Reference Panel 1001-0537

Ebola Limit of Detection (1 device)

Ebola Low Positive (1 device)

Ebola Negative (1 device)

Package Insert

### Foil Transfer Pouch 1001-0494

#### MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Timer or watch capable of timing 30 minutes

Biohazard waste container

Materials required for venipuncture whole blood specimen collection or

Materials required to obtain a fingerstick whole blood specimen

#### OPTIONAL MATERIALS NOT PROVIDED WITH KIT

Calibrated lab pipette capable of dispensing 20µL

Disposable pipette tips

BD Universal Viral Transport for Viruses, Chlamydia, Mycoplasmas and Ureaplasmas (220258)

Σ-Virocult® System (MW951S)

#### WARNINGS AND PRECAUTIONS

- For prescription use only.
- All testing **MUST** be conducted under appropriate biosafety conditions in accordance with applicable country, state and local laws and with CDC and/or WHO guidelines.
- Specimens **MUST** always be treated as infectious and/or biohazardous. The use of all possible universal precautions is highly recommended when handling specimens with this test.
- Use personal protective equipment (PPE) consistent with current guidelines including safety goggles and / or face shields, masks or respiratory equipment, disposable gowning, boots, and gloves. Users performing this test **MUST** be appropriately trained of the donning and doffing of personal protective equipment.
- All personnel conducting testing **MUST** read and be familiar with Universal Precautions<sup>1</sup>, Infection Control for Viral Hemorrhagic Fevers in the African Health Care Setting<sup>2</sup> and in Information for Healthcare Worker in the United States (<http://www.cdc.gov/vhf/ebola/healthcare-us/index.html>) depending upon their location of testing.
- For information on the transport of Ebola virus suspected positive samples, please refer to CDC Guidance for Collection, Transport, and Submission of Specimens for Ebola Virus Testing (<http://www.cdc.gov/vhf/ebola/healthcare-us/laboratories/specimens.html>), and the WHO Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2021-2022 (<https://www.who.int/publications/i/item/9789240019720>).
- All equipment and biohazardous waste **MUST** be discarded in accordance with country, state, and local laws and policies.
- This test kit is for use with venipuncture and fingerstick whole blood specimens and cadaveric oral fluid swab specimens only.
- Read times below 30 minutes significantly affect performance of the device with low positive samples. It is therefore critical that - unless samples are clearly positive - samples are not read prior to the 30 minutes. Reducing the read time below 30 minutes can prevent correct identification of low positive samples. Therefore, all negative result **MUST** be read at 30 minutes.
- Samples **MUST NOT** be pre-diluted. Such pre-dilution can result in false negative results.
- This test is not intended to be used as a screening test on patients without signs & symptoms of Ebola infection or to monitor individuals who are undergoing treatment.
- Do not smoke, eat, or drink in areas where specimens or kit reagents are handled.
- This package insert must be read completely before using the product.
- Follow the instructions carefully when performing the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Failure to do so may cause an inaccurate test result.
- This test should be performed at temperatures in the range of 15°-40°C (59°-104°F). If stored refrigerated, ensure that the divided pouch is brought to operating temperature (15°-40°C, 59°-104°F) before performing testing.
- Do not use this test beyond the expiration date printed on the divided pouch. Always check expiration date prior to testing.
- Individuals who have received an Ebola vaccine may produce false results.

#### Device Handling Precautions

- Use all micropipettes, pipette tips, test stands, test devices, and developer solution vials only once and dispose of properly (see *Warnings and Precautions*). **Do not reuse any test components.**
- Inspect the divided pouch. If the divided pouch has been damaged, discard the divided pouch and its contents and select a new divided pouch for testing.
- Do not interchange test devices and developer solution vials from kits with different lot numbers.
- Avoid microbial contamination and exercise care in handling the kit components.
- Adequate lighting is required to read a test result.

## STORAGE INSTRUCTIONS

Store unused OraQuick® Ebola Rapid Antigen Tests unopened at 5°- 30°C (41°- 86°F). Do not open the divided pouch until you are ready to perform a test. If stored refrigerated, ensure that the divided pouch is brought to operating temperature (15°- 40°C, 59°- 104°F) before opening.

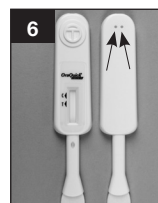
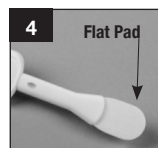
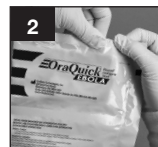
## DIRECTIONS FOR USE

### GENERAL TEST PREPARATION

1. Follow the *Warnings and Precautions* section in this instruction for use.
2. Gather the materials you will need.
3. Allow the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Tests to come to operating temperature (15°- 40°C, 59°- 104°F) before use. Refer to the External Quality Control section in this package insert to determine when the Kit Controls should be run.
4. Set an OraQuick® Test Stand at your workspace, using only the stand provided.
5. Open the two chambers of the OraQuick® Divided Pouch ("Pouch") by tearing at the notches on the top of each side of the Pouch (*see pictures 1 and 2*).
6. Remove the Developer Solution Vial ("Vial") from the Pouch. Hold the Vial firmly in your hand. Carefully remove the cap from the Vial by gently rocking the cap back and forth while pulling it off. Set the cap on your workspace cover.
7. Slide the Vial into the top of one of the slots in the Stand. **DO NOT** force the vial into the Stand from the front of the slot as splashing may occur. Make sure the Vial is pushed all the way to the bottom of the slot in the Stand (*see picture 3*).
8. Remove the Device from the Pouch. Handle the device by the plastic housing, **NOT** the Flat Pad (*see picture 4*). Place the device on a flat clean surface. Check to make sure that an Absorbent Packet is included with the Device (*see picture 5*). If no Absorbent Packet is present, discard the Device and obtain a new Pouch for testing.

**NOTE: DO NOT seal the two holes in the back of the Device with labels or other materials. Doing so may cause an Invalid result (*see picture 6*).**

### Two Chambers



**Two Holes Not to be sealed**

## SPECIMEN COLLECTION AND TESTING PROCEDURE

The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test can be used for testing venipuncture whole blood and fingerstick whole blood specimens or cadaveric oral fluid specimens. Refer to the specific testing procedures below.

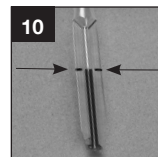
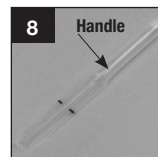
## FINGERSTICK WHOLE BLOOD AND VENIPUNCTURE PROCEDURE

### STEP 1: COLLECT

#### STEP 1A: FINGERSTICK WHOLE BLOOD

1. Using an antiseptic wipe, clean the finger of the person being tested. Allow the finger to dry thoroughly or wipe dry with a sterile gauze pad. Using a sterile lancet, puncture the skin just off the center of the finger pad and perpendicular to the fingerprint ridges. Apply slight pressure beside the point of the puncture (*see picture 7*). Avoid aggressive squeezing of the finger to make it bleed. Wipe away this first drop of blood with a sterile gauze pad. Allow a new drop of blood to form.
2. Pick up an unused plastic micropipette by the handle (*see picture 8*). Hold the micropipette horizontally and touch the tip to the drop of blood (*see picture 9*). Filling of the micropipette is automatic, never squeeze the micropipette while sampling. To prevent bubbles, the tip of the pipette must maintain uninterrupted contact with the blood sample until filled. Make sure that the micropipette is filled up to the indicator line with blood and there are no bubbles present (*see picture 10*). If a bubble is present, discard collected sample and obtain a new sample using a new micropipette.

**NOTE:** If the micropipette is dropped or comes in contact with any other surface, discard it in a biohazard waste container. Get a new micropipette for the collection of the blood sample.

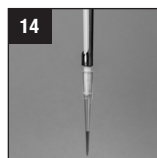
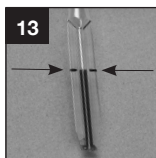
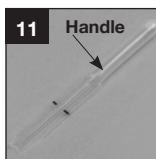


## STEP 1B: VENIPUNCTURE WHOLE BLOOD

1. Using standard venous phlebotomy procedures collect a whole blood sample using a tube containing EDTA (lavender top) anticoagulant. If the specimens are not tested at the time of collection, the specimen may be stored at 2°- 30°C (36°- 86°F) for up to 24 hours.
2. Prior to testing, mix the blood tube gently by inversion several times to ensure a homogeneous sample.
- 3a. Pick up an unused micropipette by the handle (see picture 11). Place the tip of the micropipette in the blood tube. Filling of the micropipette is automatic, never squeeze the micropipette while sampling (see picture 12). To prevent bubbles, the tip of the pipette must maintain uninterrupted contact with the blood sample until filled. Make sure that the micropipette is filled up to the indicator line with blood and there are no bubbles present (see picture 13). If a bubble is present, discard collected sample and obtain a new sample using a new micropipette.  
**NOTE:** If the micropipette is dropped or comes in contact with any other surface, discard it in a biohazard waste container. Get a new micropipette for the collection of the blood sample.
- 3b. A calibrated lab pipette, capable of dispensing 20µL with a disposable tip, may be used in place of the micropipette. After drawing up the sample, inspect the tip for bubbles (see picture 14). If a bubble is present, discard the collected sample and obtain a new sample using a new tip.

## STEP 2: TEST

1. Deposit the blood sample through the sample port on the device by compressing the micropipette or releasing the sample from the calibrated pipette directly above the sample port (see pictures 15-16). **Samples MUST only be applied directly to the device and must NOT be pipetted into the Developer Vial.**
2. Insert the Flat Pad of the Device all the way into the Developer Vial (see picture 17). Make sure that the Flat Pad touches the bottom of the Vial. The Result Window on the Device should be facing towards you (see picture 18).
3. Start timing the test (see picture 19). **DO NOT** remove the Device from the Vial while the test is running. Red fluid will appear and travel up the Result Window. The red fluid may gradually lighten as the test develops (see picture 20). Read the results in a fully lighted area. Positive results may be interpreted as soon as lines are visible at the Test (T) Zone and Control (C) Zone and have been observed as early as 4 minutes. **All negative results MUST be read at 30 minutes after inserting the device into the Developer Vial. Read times less than 30 minutes significantly affect the performance of the device and prevent the correct identification of low positive samples.**
4. Refer to the *Test Result and Interpretation of Test Result* section on page 8 of in this package insert.



## CADAVERIC ORAL FLUID PROCEDURE – DIRECT COLLECTION

### STEP 1: COLLECT

1. Remove the Device from its Pouch. Handle the device by the plastic housing, **NOT** the Flat Pad (see picture 21). Check to make sure that an Absorbent Packet is included with the Device (see picture 22). If no Absorbent Packet is present, discard the Device and obtain a new Pouch for testing.
2. Open the mouth of the cadaver and collect a sample from the posterior oral cavity by swiping the flat pad around the back of the soft palate (see pictures 23 and 24). If collection in this manner is not feasible due to rigor mortis, collection of cadaveric oral fluid can be taken from the gum line. To obtain a sample from the gum line, swipe the flat pad once around the top and once around the bottom of the gum line (see pictures 25 and 26).

**NOTE: Both sides of the Flat Pad may be used during this procedure.**

3. If the device cannot be placed immediately in the Developer Vial for Testing (Step 2 below), the device may be placed in a foil Transfer Pouch. **Only those pouches provided by OraSure Technologies as an accessory as part number (1001-0494) should be used to ensure proper stability of the sample.**
4. Sealed Transfer Pouch may be stored at 15° - 40°C (59° - 104°F) for 60 minutes or at 2° - 8°C (36° - 46°F) for up to 22 hours prior to testing.

### STEP 2: TEST

1. If testing samples that were stored on ice, remove the Transfer Pouch from storage and allow it to come to room temperature for 15 minutes prior to testing.
2. Insert the Flat Pad of the Device all the way into the Vial (see picture 27). Make sure that the Flat Pad touches the bottom of the Vial. The Result Window on the Device should be facing towards you (see picture 28).
3. Start timing the test (see picture 29). DO NOT remove the Device from the Vial while the test is running. Purple fluid will appear and travel up the Result Window. The purple fluid will gradually disappear as the test develops (see picture 30). Positive results may be interpreted as soon as lines are visible at the Test (T) Zone and Control (C) Zone. Negative results have to be read 30 minutes after inserting the device into the Developer Vial.
4. Refer to the *Test Result and Interpretation of Test Result* section on page 8 of this Package Insert.



## CADAVERIC ORAL FLUID PROCEDURE – TRANSPORT MEDIA

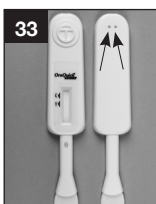
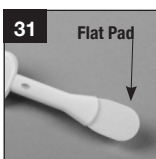
### STEP 1: COLLECT

1. Cadaveric oral fluid specimens should be collected and handled following the instructions for use of the swab/viral transport media. Once a swab specimen is collected, it should be placed in the transport media vial. Specimens may be stored at 2° - 40°C (36° - 104°F) for up to 24 hours. If the sample cannot be tested within 24 hours of collection, the transport media can be frozen at - 70°C (- 94°F) with a maximum of 3 freeze/thaw cycles.

### STEP 2: TEST

1. Prior to testing, mix the transport media tube gently by inversion several times to ensure a homogeneous sample. Remove the collection swab from the tube.
2. Remove the Device from the Pouch. Handle the device by the plastic housing, **NOT** the Flat Pad (see picture 31). Place the device on a flat clean surface. Check to make sure that an Absorbent Packet is included with the Device (see picture 32). If no Absorbent Packet is present, discard the Device and obtain a new Pouch for testing.

**NOTE: DO NOT** cover the two holes in the back of the Device with labels or other materials. Doing so may cause an Invalid result (see picture 33).



**Two Holes Not to be sealed**



- Using a calibrated laboratory pipette with disposable tip, slowly draw up 20µL of sample from the viral transport media tube (see picture 34). Inspect the tip for bubbles in the sample (see picture 35). If a bubble is present, discard the sample and obtain a new sample using a new pipette tip.
- Deposit the cadaveric sample into the sample port on the device by inserting the pipette tip directly above the sample port (see picture 36) and releasing the sample.
- Insert the Flat Pad of the Device all the way into the Vial (see picture 37). Make sure that the Flat Pad touches the bottom of the Vial. The Result Window on the Device should be facing towards you (see picture 38).
- Start timing the test (see picture 39). **DO NOT** remove the Device from the Vial while the test is running. Purple fluid will appear and travel up the Result Window. The purple fluid will gradually disappear as the test develops (see picture 40). Positive results may be interpreted as soon as lines are visible at the Test (T) Zone and Control (C) Zone. Negative results have to be read 30 minutes after inserting the device into the Developer Vial.
- Refer to the *Test Result and Interpretation of Test Result* section on page 8 of this Package Insert.



## GENERAL TEST CLEAN-UP

- Dispose of the used test materials in a biohazard waste container. All equipment and biohazardous waste should be discarded in accordance with country, state, and local laws and policies.
- Change your gloves between each test to prevent contamination. Throw away the used gloves in a biohazard waste container.
- Use a freshly prepared 10% solution of bleach to clean up any spills.

## QUALITY CONTROL PROCEDURES

### Built-in Control Features

The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test has a built-in procedural control that demonstrates assay validity. A red to purple line in the Control (C) zone of the Result Window indicates that the fluid migrated appropriately through the Test Device. The Control line will appear on all valid tests, whether or not the sample is positive or negative for Ebola Antigens. (Refer to the *Test Result and Interpretation of Test Result* section on page 8 of this package insert).

### External Quality Control

OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test Kit Controls must be used with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. The Kit Controls are specifically formulated and manufactured to ensure performance of the Test, and are used to verify your ability to properly perform the test and interpret the results. The Ebola Positive Control will produce a positive test result and the Ebola Negative Control will produce a negative test result (Refer to the *Test Result and Interpretation of Test Result* section on page 8 of this package insert). Use of kit control reagents manufactured by any other source may not produce the required results, and therefore, will not meet the requirements for an adequate quality assurance program for the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. If external controls do not produce expected results, patient testing should not be performed. Contact OraSure Technologies' Customer Care if the Kit Control reagents do not produce the expected results.

### Run the External Controls under the following circumstances:

- Each new operator prior to performing testing on patient specimens,
- When opening a new test kit lot,
- Whenever a new shipment of test kits is received,
- If the temperature of the test kit storage area falls outside of 5°- 30°C (41°- 86°F), and
- At periodic intervals as dictated by local, state and country laws and by the user facility.

### Test Procedure for External Controls:

Refer to the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test Kit Control package insert for full instruction on the use of these reagents. It is the responsibility of each laboratory using the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test to establish an adequate quality assurance program to ensure the performance of the device under its specific locations and conditions of use.

### Qualification for New Operators

The OraQuick® Ebola Visual Reference Panel is available separately for use with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. OraQuick® Ebola Visual Reference Panel includes potential test results including negative, low positive, and the limit of detection of the device. New operators must be able to correctly interpret all devices in the OraQuick® Ebola Visual Reference Panel prior to using the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test device with patient samples. Failure to read at low intensities can result in the inability to detect specimens near the limit of detection of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test and may result in false negative results.

## TEST RESULT AND INTERPRETATION OF TEST RESULT

Positive results may be interpreted as soon as lines are visible in the Test (T) Zone and the Control (C) Zone and have been observed as early as 4 minutes. Negative results have to be read 30 minutes after inserting the device into the Developer Vial.

### NEGATIVE

A test is **Negative** if:

A red to purple line appears in the C Zone and NO line appears next to the T Zone (see pictures 41a/b)

A Negative test result is interpreted as Ebola antigen not detected in the specimen. The cadaver is presumed negative for Ebola antigen.

**A Negative result does not preclude Ebola virus infection.**

### POSITIVE

A test is **Positive** if:

A red to purple line appears in the C Zone and a red to purple line appears in the T Zone. Lines may vary in intensity. The test is positive regardless of how faint these lines appear (see pictures 42a/b, 43a/b, and 44a/b).

A Positive test result is interpreted as Ebola antigen detected in the specimen. The patient/cadaver is presumed positive for Ebola antigen. Definitive identification of EVD requires additional testing and confirmation procedures in consultation with public health and/or other authorities to whom reporting is required.

In accordance with CDC and WHO recommendations cadavers with a positive result should be subjected to safe and dignified burial procedures and contacts of an Ebola positive cadaver should be identified. Follow up testing of possible contacts should be conducted in accordance with, EMERGENCY GUIDELINE Implementation and management of contact tracing for Ebola virus disease ([http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/185258/1/WHO\\_EVD\\_Guidance\\_Contact\\_15\\_1\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/185258/1/WHO_EVD_Guidance_Contact_15_1_eng.pdf?ua=1)) issued by the World Health Organization (WHO) and the Centers for Disease Control (CDC).

### INVALID

A test is **Invalid** if any of the following occurs:

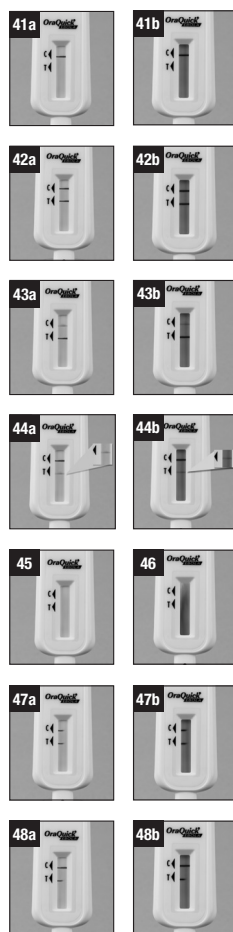
- **NO** red to purple line appears in the C Zone (see picture 45), or
- A red to purple background in the Result Window makes it difficult to read the result at 30 minutes (see picture 46), or
- Any partial line on one side of the C or T Zones (see picture 47a/b and 48a/b).

An Invalid test result means that there was a problem running the test, related either to the specimen or to the Test Device. **An Invalid result cannot be interpreted. An invalid test result needs to be repeated with a fresh sample and a new device. Please contact OraSure Technologies' Customer Care if you are unable to obtain a valid test result upon repeat testing.**

To report a device problem, contact OraSure Technologies Customer Service (1-800-orasure) within the United States or +(001) 610-882-1820 for outside the United States. You can also go to <http://www.orasure.com/contact/contactcustomer-service.asp>.

### LIMITATIONS OF THE TEST

1. Weak positive samples may take longer to develop and can take the entire 30 minutes for a test line to be present. Therefore, all negative test results **MUST** be read 30 minutes after inserting the device in the Developer Vial. Negative test result must not be reported prior to reading the device at 30 minutes.
2. Reading any test result after 30 minutes may yield inaccurate test results.
3. Testing with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test should not be performed unless the patient meets clinical and epidemiologic criteria for testing suspect specimens.
4. Assay results are for the presumptive identification of Ebola virus. The definitive identification of Ebola virus requires additional testing and confirmation procedures in consultation with public health or other authorities for whom reporting is required. The diagnosis of Ebola virus must be made based on history, signs, symptoms, exposure likelihood, and other laboratory evidence in addition to the identification of Ebola virus.
5. Negative results do not preclude Ebola virus infection and should not be used as the sole basis for patient management decisions. The definitive identification of Ebola Virus Disease (EVD) requires additional testing and confirmation procedures in consultation with public health or other authorities for whom reporting is required.
6. Potential cross reactivity of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test with Ebola vaccines or therapeutics has not been evaluated. Specimens from patients who have received therapeutics or vaccines against Ebola virus may exhibit false positive or other confounding test results.
7. Testing of whole blood samples with concentrations of Rheumatoid Factor above 1050 IU/mL may result in false positive results.
8. Testing cadaveric oral fluid samples with concentrations of mucin above 15mg/mL may result in false positive results.
9. Cross-reactivity with organisms other than those tested in the cross-reactivity study have not been assessed.
10. Clinical performance for the detection of the other Ebola viruses is not known but might be lower than for Zaire Ebolavirus. However, cross-reactivity has been shown for Sudan and Bundibugyo strains.



## PERFORMANCE CHARACTERISTICS

### WHOLE BLOOD CLINICAL PERFORMANCE

Performance of the device with Ebola virus positive fingerstick whole blood was established in a non-human primate model.

#### i. Sierra Leone Study

A total of 75 retrospective, remnant whole blood samples collected from patients in West Africa (Sierra Leone) during the 2014-2015 Ebola outbreak were tested with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. These samples were tested in West Africa using an U.S. FDA Emergency Use authorized (EUA) Ebola Virus Real-time RT-PCR Assay. The whole blood samples were stored frozen thereafter until testing with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Testing was performed in a randomized, blinded manner. OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test performance in comparison to the results generated by the EUA Ebola Virus Real-time RT-PCR Assay (the Comparator) were calculated based on OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test results that were read at 30 minutes.

#### Percent Agreement against the RT-PCR comparator – overall and stratified by Ct

|     | PCR Ct Ranges        | Percent Agreement          | 95% CI <sup>1</sup> |
|-----|----------------------|----------------------------|---------------------|
| PPA | 15 – 23              | 100% (16/16)               | 79.41% - 100.0%     |
|     | 24 – 34 <sup>2</sup> | 55.6% (5/9)                | 21.20% - 86.30%     |
|     | 15 – 34 (overall)    | 84.0% (21/25)              | 63.92% - 95.46%     |
| NPA | >40                  | 98.0% (49/50) <sup>3</sup> | 89.35% - 99.95%     |

<sup>1</sup> Calculated using Clopper-Pearson exact method. <sup>2</sup> Cts in this range are representative for Ebola concentrations around and below the LoD of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. <sup>3</sup> This false positive sample tested repeat positive in a re-test.

#### OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test compared to the Comparator

|                        |   | Comparator RT-PCR Results |   |       |   |       |   |       |   |         |   | Comparator RT-PCR Results |    |
|------------------------|---|---------------------------|---|-------|---|-------|---|-------|---|---------|---|---------------------------|----|
|                        |   | 15- 20                    |   | 21-24 |   | 25-29 |   | 30-34 |   | Overall |   | Ebola not detected        |    |
|                        |   | +                         | - | +     | - | +     | - | +     | - | +       | - | +                         | -  |
| OQ<br>Ebola<br>Results | + | 7                         |   | 9     |   | 3     |   | 2     |   | 21      |   |                           |    |
|                        | - |                           | 0 |       | 0 | 2     | 0 | 2     | 0 | 4       | 0 | 1                         | 49 |

No samples were tested with a Ct value of 24 or 29.

#### ii. Ebola Positive Contrived Blood Samples

Twenty-Five (25) venous whole blood samples from febrile individuals (> 100.4°F) were collected and spiked with Gamma Irradiated Zaire Ebola Virus, Mayinga (BEI, NR-31807) to make contrived positive samples. Twelve (12) samples were spiked at 1.5 x Limit of Detection (LoD), and thirteen (13) were spiked at 5 x LoD. Positive percent agreement (PPA) for the venous whole blood samples was 100% (95% CI 86.28% - 100.00%). Results are summarized in the table below.

| Sample Type                                                                | Positive Percent Agreement (n/N) | 95% CI*          |
|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|------------------|
| Venous Whole Blood                                                         | 100% (25/25)                     | 86.28% - 100.00% |
| n = number in agreement, N = sample size                                   |                                  |                  |
| *Confidence Interval (CI) calculated using Clopper-Pearson (exact) method. |                                  |                  |

#### iii. Performance in a Non-Endemic Population

To support a fingerstick whole blood claim, a specificity study was conducted on 26 subjects in the United States. Data from one individual was excluded due to out of window reads. In another study, a total of 493 individuals were enrolled across 4 sites in the United States. Of these, 38 individual's samples were used to contrive positive samples for blinding purposes, 1 individual withdrew consent and 4 individual samples were excluded from the analysis due to deviations. The remaining 450 individuals were included in the analysis of which 226 were venous whole blood samples and 224 were fingerstick blood samples. A sub-set of the individuals enrolled were febrile (> 100.4°F). A summary of all results are provided in the table below.

| Sample Type                                                                | Negative Percent Agreement (n/N) | 95% CI*          |
|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|------------------|
| Venous Whole Blood - febrile                                               | 100% (21/21)                     | 83.89% - 100.00% |
| Venous Whole Blood - non-febrile                                           | 100% (205/205)                   | 98.22% - 100.00% |
| Fingerstick Whole Blood - febrile                                          | 100% (21/21)                     | 83.89% - 100.00% |
| Fingerstick Whole Blood - non-febrile                                      | 99.6% (227/228)                  | 97.59% - 99.99%  |
| n = number in agreement, N = sample size                                   |                                  |                  |
| *Confidence Interval (CI) calculated using Clopper-Pearson (exact) method. |                                  |                  |

#### iv. Fingerstick Whole Blood Performance

Performance of the device with Ebola virus positive fingerstick whole blood was established in a non-human primate (NHP) model. The purposes of the NHP study was to evaluate (1) concordance of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test results between venous whole blood (venous) and capillary blood (fingerstick) and (2) concordance of OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test results with a reference RT-PCR assay under EUA.

The table below summarizes the results of the animal matched venous whole blood and fingerstick whole blood tested on the OraQuick device, along with the RT-PCR results. NPA of the OraQuick Ebola Rapid Antigen Test was calculated using the animal's baseline samples prior to viral challenge. NPA was 100% (10/10 samples) for venous whole blood and fingerstick.

|                   | PPA<br>(compared to Infected Status) |            | PPA<br>(compared to PCR) |            |
|-------------------|--------------------------------------|------------|--------------------------|------------|
|                   | Fingerstick                          | Venous     | Fingerstick              | Venous     |
| <b>Day 3</b>      | 20% (1/5)                            | 0 % (0/5)  | N/A                      | N/A        |
| <b>Day 5</b>      | 100% (5/5)                           | 60% (3/5)  | 100% (5/5)               | 60% (3/5)  |
| <b>Day 7 to 8</b> | 100% (4/4)                           | 100% (5/5) | 100% (4/4)               | 100% (5/5) |

The findings should not be interpreted as early detection is more sensitive on FSWB than VWB.

#### v. Performance with WHO International Reference Panel for Ebola Virus VP40 Antigen

The WHO recombinant VP40 reference material was evaluated to determine the dilutional sensitivity of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test with an independent standardized material. This material (1st Reference Reagent 2016, lyophilized Ebola VP40 Antigen; Item #2016.2302, Sample 3) was obtained from National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). Sample 3 was reconstituted per manufacturer's instructions, pooled, and serial dilutions prepared in whole blood. Five sets of dilutions were prepared using the same whole blood sample. The dilutions and results are displayed in the table below.

|                  |             | Rep 1 | Rep 2 | Rep 3 | Rep 4 | Rep 5 |
|------------------|-------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| <b>Undiluted</b> | <b>0</b>    | R     | R     | R     | R     | R     |
| <b>Dilution</b>  | <b>1:3</b>  | NR    | NR    | R     | R     | R     |
|                  | <b>1:6</b>  | NR    | NR    | NR    | NR    | NR    |
|                  | <b>1:9</b>  | NR    | NR    | NR    | NR    | NR    |
|                  | <b>1:12</b> | NR    | NR    | NR    | NR    | NR    |
|                  | <b>1:24</b> | NR    | NR    | NR    | NR    | NR    |
|                  | <b>1:48</b> | NR    | NR    | NR    | NR    | NR    |

R: Reactive. NR: Non-Reactive. R and NR results are equivalent to Positive and Negative results, respectively.

#### WHOLE BLOOD ANALYTICAL SENSITIVITY

##### WHOLE BLOOD LIMIT OF DETECTION

A Limit of Detection (LoD) range finding study in venous whole blood identified  $1.64 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub>/mL as the tentative LoD for Zaire Ebola Inactivated Virus (Virus Stock: Ebola Zaire Mayinga ZZXDK901 / 812094 / VSP /  $2.5 \times 10^8$  TCID<sub>50</sub>/mL). This tentative LoD was confirmed as the LoD by 19 out of 20 replicates testing positive with the same Ebola Inactivated Virus at this concentration.

Additionally, a LoD range finding study was performed using recombinant VP40 antigen spiked into pooled venous whole blood. This LoD range finding study determined the tentative LoD of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test in venous whole blood with recombinant antigen to be 53,000 pg/mL or 1.06 ng/test. This tentative LoD was confirmed as the LoD by 20 out of 20 replicates testing positive with the same recombinant VP40 antigen at this concentration.

## WHOLE BLOOD ANALYTICAL REACTIVITY (INCLUSIVITY)

Analytical reactivity of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test was evaluated for additional strains of the Ebola virus. Testing of three (3) replicates was performed using negative venous whole blood as the testing sample matrix. The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test also reacts with E. Sudan and E. Bundibugyo in addition to reacting with E. Zaire.

| <b>Ebola Strain</b>                                        | <b>Inactivated or Live</b> | <b>Concentration Tested</b>                                                                                                      | <b>Reactivity<br/>(Positive (P)/Negative (N))</b> |
|------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Ebola Zaire Mayinga<br>ZZXDK901/812094/VSP                 | Inactivated                | 1.5x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /mL                                                                                       | P <sup>B</sup>                                    |
| Ivory Coast<br>(COTE D'IVOIRE 11/27/94)                    | Inactivated                | Unknown (1:10 dilution)<br>Unknown (1:1 dilution)                                                                                | N<br>N                                            |
| Reston<br>(119876 Pennsylvania)                            | Inactivated                | 3.16 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL<br>3.16 x 10 <sup>7</sup> PFU/mL                                                                   | N<br>N                                            |
| Sudan<br>(BONEFACE)                                        | Inactivated                | 10 <sup>5</sup> PFU/mL<br>5 x 10 <sup>5</sup> PFU/mL                                                                             | N<br>P <sup>A</sup>                               |
| Sudan <sup>E</sup><br>(200011676 GULU)                     | Inactivated                | 5.6 x 10 <sup>4</sup> PFU/mL<br>2.8 x 10 <sup>5</sup> PFU/mL                                                                     | P <sup>A</sup><br>P                               |
| Bundibugyo <sup>F</sup><br>(200706291 UGANDA<br>prototype) | Inactivated                | 3.98 x 10 <sup>4</sup> PFU/mL<br>1.99 x 10 <sup>5</sup> PFU/mL                                                                   | P<br>P                                            |
| Sudan Gulu <sup>F</sup><br>(2000011676)                    | Inactivated                | 3.25 x 10 <sup>5</sup> PFU/ml<br>5.95 x 10 <sup>5</sup> PFU/mL<br>1.19 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL<br>1.79 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL | N<br>N<br>P<br>P <sup>C</sup>                     |
| Bundibugyo <sup>F</sup><br>(Uganda)                        | Inactivated                | 3.73 x 10 <sup>4</sup> PFU/mL<br>6.83 x 10 <sup>4</sup> PFU/mL<br>1.37 x 10 <sup>5</sup> PFU/mL<br>2.05 x 10 <sup>5</sup> PFU/mL | N<br>N <sup>D</sup><br>P<br>P                     |
| Tai Forest<br>(aka Ivory Coast)                            | Inactivated                | 1.36 x 10 <sup>7</sup> VP/mL<br>7.5 x 10 <sup>7</sup> VP/mL                                                                      | N<br>N                                            |
| Reston (aka H28)                                           | Inactivated                | 5.83 x 10 <sup>5</sup> PFU/mL                                                                                                    | N                                                 |

<sup>A</sup> Two of three replicates tested Positive and acceptance criteria met.

<sup>B</sup> Testing completed in LoD study.

<sup>C</sup> A 4th replicate was added to confirm original non-reactive results for one replicate – 3 out of 4 replicates reactive.

<sup>D</sup> One of three replicates was reactive and criteria was not met.

<sup>E,F</sup> The two tested materials from the same strain have been obtained from a different source. Differences in preparation methods can lead to differences in the number of plaque forming units even if the starting material is the same.

## HIGH DOSE HOOK EFFECT

A high-dose hook effect is a false negative result due to very high concentrations of the target analyte. Antigen at excessive concentrations could quench the specific antibodies in the assay decreasing complexes between the antibody on the gold conjugate and the biotinylated antibody. Insufficient binding of the gold conjugate could occur at the test line and the result interpreted falsely as a negative result. An analytical study was conducted and the results demonstrate acceptable performance of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test when evaluating samples at excessive antigen concentrations. There is no decrease in visual intensity at the test line for a VP40 antigen concentration up to 10,000 times the established LoD.

## WHOLE BLOOD ANALYTICAL SPECIFICITY

### WHOLE BLOOD INTERFERING SUBSTANCES

The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test was evaluated with the following interfering substances present in negative whole blood and whole blood spiked with recombinant antigen (rAg) at 2.0 X the LoD in order to assess their potential effect on the assay performance as per CLSI guidelines EP7-A2<sup>3</sup>. For Bilirubin, Hemoglobin, Protein and HAMA testing was completed on three (3) whole blood samples tested at n=2 replicates for each condition. Rheumatoid Factor testing was performed on three serum samples, that were each tested in two dilutions with n=2 replicates. The concentrations of Rheumatoid Factor that were tested ranged from 525 IU/mL to 11,900 IU/mL. The remaining substances were tested on four (4) whole blood samples at n=3 replicates. Those interfering substances that produced occasional false negative results in the low positive rAg spiked samples (2.0 X LoD) were repeated in the presence of slightly higher rAg concentration (4 X LoD) to distinguish random statistical distribution of measurements on a low positive sample from true interference of the test substance.

| Interfering Substance                     | Target Testing Concentration | n  | Negative Samples |           | Positive rAG Spiked Samples |           |
|-------------------------------------------|------------------------------|----|------------------|-----------|-----------------------------|-----------|
|                                           |                              |    | Positive         | Negative  | Positive                    | Negative  |
| Bilirubin                                 | 25 mg/dL                     | 6  | 0                | 6 (100%)  | 6 (100%)                    | 0         |
| Hemoglobin                                | 20 g/dL                      | 6  | 0                | 6 (100%)  | 6 (100%)                    | 0         |
| Protein                                   | 5 g/dL                       | 6  | 0                | 6 (100%)  | 6 (100%)                    | 0         |
| HAMA                                      | 2464 ng/mL                   | 6  | 0                | 6 (100%)  | 6 (100%)                    | 0         |
| Rheumatoid Factor (serum)                 | 1050 IU/mL                   | 2  | 0                | 2 (100%)  | 2 (100%)                    | 0         |
|                                           | 2920 IU/mL                   | 2  | 2 (100%)         | 0         | 2 (100%)                    | 0         |
| Rheumatoid Factor (serum in whole blood)  | 525 IU/mL                    | 4  | 0                | 4 (100%)  | 3 (75%)                     | 1 (25%)   |
|                                           | 1460 IU/mL                   | 4  | 4 (100%)         | 0         | 4 (100%)                    | 0         |
| Rheumatoid Factor (plasma)                | 11,900 IU/mL                 | 6  | 6 (100%)         | 0         | 6 (100%)                    | 0         |
| Rheumatoid Factor (plasma in whole blood) | 2000 IU/mL                   | 6  | 5 (83%)          | 1 (17%)   | 6 (100%)                    | 0         |
| Cholesterol                               | 13 mmol/L                    | 12 | 0                | 12 (100%) | 12 (100%)                   | 0         |
| Antinuclear Antibodies                    | 1:160 titer                  | 12 | 0                | 12 (100%) | 11 (91.7%)                  | 1 (8.3%)  |
|                                           | 1:120 titer                  | 3  |                  |           | 3 (100%)                    | 0         |
|                                           | 1:160 titer at 4.0 x LoD     | 12 |                  |           | 12 (100%)                   | 0         |
| Acetylsalicylic Acid                      | 3.62 mmol/L                  | 12 | 0                | 12 (100%) | 12 (100%)                   | 0         |
| Salicylic Acid                            | 4.34 mmol/L                  | 12 | 0                | 12 (100%) | 12 (100%)                   | 0         |
| Sulfamethoxazole                          | 1.58 mmol/L                  | 12 | 0                | 12 (100%) | 12 (100%)                   | 0         |
| Ribavirin                                 | 11.04 µg/mL                  | 12 | 0                | 12 (100%) | 11 (91.7%)                  | 1 (8.3%)  |
|                                           | 5.52 µg/mL                   | 3  |                  |           | 3 (100%)                    | 0         |
|                                           | 11.04 µg/mL at 4.0 x LoD     | 12 |                  |           | 12 (100%)                   | 0         |
| Emtricitabine                             | 7.5 µg/mL                    | 12 | 0                | 12 (100%) | 11 (91.7%)                  | 1 (8.3%)  |
|                                           | 3.75 µg/mL                   | 3  |                  |           | 3 (100%)                    | 0         |
|                                           | 7.5 µg/mL at 4.0 x LoD       | 12 |                  |           | 12 (100%)                   | 0         |
| Efavirenz                                 | 16.6 µg/mL                   | 12 | 0                | 12 (100%) | 12 (100%)                   | 0         |
| Ritonavir                                 | 33.6 µg/mL                   | 12 | 0                | 12 (100%) | 10 (83.3%)                  | 2 (16.7%) |
|                                           | 16.8 µg/mL                   | 6  |                  |           | 6 (100%)                    | 0         |
|                                           | 33.6 µg/mL at 4.0 x LoD      | 12 |                  |           | 12 (100%)                   | 0         |
| Elvitegravir                              | 5.61 µg/mL                   | 12 | 0                | 12 (100%) | 12 (100%)                   | 0         |
| Chloroquine                               | 17.95 µg/mL                  | 12 | 0                | 12 (100%) | 12 (100%)                   | 0         |
| Atovaquone / Proguanil                    | 89.1/2.8 µg/mL               | 12 | 0                | 12 (100%) | 12 (100%)                   | 0         |
| Ibuprofen                                 | 2425 µmol/L                  | 12 | 0                | 12 (100%) | 12 (100%)                   | 0         |
| Acetaminophen                             | 1324 µmol/L                  | 12 | 0                | 12 (100%) | 12 (100%)                   | 0         |
| Quinine                                   | 148 µmol/L                   | 12 | 0                | 12 (100%) | 11 (91.7%)                  | 1 (8.3%)  |
|                                           | 74 µmol/L or 24 µg/mL        | 3  |                  |           | 3 (100%)                    | 0         |
|                                           | 148 µmol/L at 4.0 x LoD      | 11 |                  |           | 11 (100%)                   | 0         |
| Rifampin                                  | 78.1 µmol/L                  | 12 | 0                | 12 (100%) | 12 (100%)                   | 0         |
| Amoxicillin                               | 206 µmol/L                   | 12 | 0                | 12 (100%) | 12 (100%)                   | 0         |

|              |             |    |   |           |           |   |
|--------------|-------------|----|---|-----------|-----------|---|
| Tetracycline | 34 µmol/L   | 12 | 0 | 12 (100%) | 12 (100%) | 0 |
| Erythromycin | 81.6 µmol/L | 12 | 0 | 12 (100%) | 12 (100%) | 0 |
| Biotin       | 3.6 µg/mL   | 12 | 0 | 12 (100%) | 12 (100%) | 0 |

Rheumatoid Factor caused false positive results in the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test at all tested concentrations greater than 1050 IU/mL. Concentrations of Rheumatoid Factor equal or less than 1050 IU/mL do not cause interference in the assay.

### WHOLE BLOOD CROSS REACTIVITY

Cross reactivity of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test was evaluated by testing additional viral, bacterial, and parasitic pathogens. In this study three (3) replicates were tested with the pathogens spiked into venous whole blood at the concentrations listed below. None of the tested organisms produced false positive results in the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test at the concentration tested.

| Virus/Bacteria/Parasite           | Inactivated or Live | Type/Strain                                                                                                    | Concentration Tested                                                                                                                                               | Reactivity                           |
|-----------------------------------|---------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Marburg                           | Inactivated         | RAVN<br>Musoke<br>Lake Victoria (aka Musoke)<br>2005011379 Angola<br>VOEGE                                     | Log 5.53 TCID <sub>50</sub> /mL<br>3.16 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL<br>3.73 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL<br>1.44 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL<br>3.6 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL | None<br>None<br>None<br>None<br>None |
| Crimean Congo Hemorrhagic Fever   | Inactivated         | OMAN199809166 #811466                                                                                          | 5.6 x 10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /mL                                                                                                                       | None                                 |
| Lassa                             | Inactivated         | Josiah<br>Josiah<br>Macenta (aka Z-136)<br>Pinneo                                                              | 3.16 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL<br>1.88 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL<br>1.19 x 10 <sup>7</sup> PFU/mL<br>2.00 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL                                   | None<br>None<br>None<br>None         |
| Rift Valley Fever                 | Inactivated         | ZH-501<br>ZH-501                                                                                               | 3 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL<br>5.43 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL                                                                                                        | None<br>None                         |
| Yellow Fever                      | Inactivated         | Vaccine Strain #806588<br>Asibi                                                                                | Unknown<br>1.88 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL                                                                                                                           | None<br>None                         |
| Chikungunya virus                 | Live                | ATCC VR-64                                                                                                     | 3.0 x 10 <sup>8</sup> LD <sub>50</sub> /mL                                                                                                                         | None                                 |
| Influenza A                       | Live                | A/Wisconsin/10/1998                                                                                            | 2.3 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL                                                                                                                       | None                                 |
| Influenza B                       | Live                | B/Florida/04/06                                                                                                | 4.6 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL                                                                                                                       | None                                 |
| Rotavirus                         | Live                | ATCC VR-899                                                                                                    | 6.4 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /mL                                                                                                                       | None                                 |
| Adenovirus                        | Live                | Type 4 ATCC VR-1572                                                                                            | 2.0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL                                                                                                                       | None                                 |
| RSV                               | Live                | ATCC VR-26                                                                                                     | 9.0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL                                                                                                                       | None                                 |
| Enterovirus                       | Live                | Enterovirus 71 ATCC VR-1432                                                                                    | 5.1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL                                                                                                                       | None                                 |
| Salmonella                        | Live                | S. enterica ATCC 10708                                                                                         | 3.8 x 10 <sup>7</sup> CFU/mL                                                                                                                                       | None                                 |
| Salmonella typhi                  | Live                | S. typhi ATCC 6539                                                                                             | 5.4 x 10 <sup>6</sup> CFU/mL                                                                                                                                       | None                                 |
| Shigella                          | Live                | S. dysenteriae ATCC 9361                                                                                       | 4.0 x 10 <sup>6</sup> CFU/mL                                                                                                                                       | None                                 |
| Pseudomonas aeruginosa            | Live                | P. aeruginosa ATCC 15442                                                                                       | 3.4 x 10 <sup>8</sup> CFU/mL                                                                                                                                       | None                                 |
| Vibrio Cholera                    | Live                | V. cholera ATCC 39050                                                                                          | 6.7 x 10 <sup>5</sup> CFU/mL                                                                                                                                       | None                                 |
| Streptococcus pneumonia           | Live                | S. pneumonia ATCC 6303                                                                                         | 2.1 x 10 <sup>8</sup> CFU/mL                                                                                                                                       | None                                 |
| Hemophilus influenza (meningitis) | Live                | H. influenzae ATCC 33930                                                                                       | 3.0 x 10 <sup>7</sup> CFU/mL                                                                                                                                       | None                                 |
| Leptospira genus                  | Live                | L. biflexa ATCC 23582                                                                                          | ~ 9.1 x 10 <sup>4</sup> CFU/mL                                                                                                                                     | None                                 |
| Neisseria meningitides            | Live                | N. meningitides ATCC 13090                                                                                     | 3.5 x 10 <sup>6</sup> CFU/mL                                                                                                                                       | None                                 |
| Yersinia enterocolitica           | Live                | Y. enterocolitica ATCC 23715                                                                                   | 7.0 x 10 <sup>6</sup> CFU/mL                                                                                                                                       | None                                 |
| Plasmodium falciparum             | Live                | P. falciparum ATCC 30932                                                                                       | 0.26% parasitemia                                                                                                                                                  | None                                 |
| Plasmodium vivax                  | Live                | P. vivax ATCC 30151                                                                                            | Unknown                                                                                                                                                            | None                                 |
| Trypanosoma                       | Live                | T. cruzi ATCC 30013                                                                                            | 6.8 x 10 <sup>5</sup> cells/mL                                                                                                                                     | None                                 |
| Rickettsia                        | Protein Only        | R. africae (protein)<br>BEI NR-42992                                                                           | 11.6 mg/mL                                                                                                                                                         | None                                 |
| Dengue                            | Inactivated         | Serotype 1, strain WP74<br>Serotype 2, strain 16803<br>Serotype 3, strain CH53489<br>Serotype 4, strain 341750 | 6.20 x 10 <sup>4</sup> PFU/mL<br>7.18 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL<br>1.52 x 10 <sup>4</sup> PFU/mL<br>2.12 x 10 <sup>6</sup> PFU/mL                                   | None<br>None<br>None<br>None         |

| <b>Virus/Bacteria/Parasite</b>    | <b>Inactivated or Live</b> | <b>Type/Strain</b>                                                | <b>Concentration Tested</b>                  | <b>Reactivity</b> |
|-----------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|-------------------|
| Bacteroides fragilis              | Live                       | VPI 2553 [EN-2; NCTC 9343]<br>ATCC 25285                          | 1.0 x 10 <sup>8</sup> CFU/mL                 | None              |
| Klebsiella pneumoniae             | Live                       | [CIP 104216, NCIB 10341]<br>ATCC 4352                             | 5.8 x 10 <sup>7</sup> CFU/mL                 | None              |
| Enterococcus faecium              | Live                       | NCTC 7171 [DSM 20477, JCM<br>8727, NCDO 942] ATCC 19434           | 7.6 x 10 <sup>7</sup> CFU/mL                 | None              |
| Escherichia coli                  | Live                       | AMC 198 ATCC 11229                                                | 4.5 x 10 <sup>7</sup> CFU/mL                 | None              |
| Vesicular Stomatitis Virus        | Live                       | Rhabdovirus Indiana Lab<br>[V-520-001-522] ATCC VR-158            | 7.9 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /mL | None              |
| Human Immunodeficiency<br>Virus-1 | Live                       | Clinical Sample<br>ZeptoMetrix 022117B1D                          | 5.1 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /mL | None              |
| Hepatitis A Virus                 | Live                       | Clinical Sample<br>University of Ottawa 021916B1C-<br>1D          | 4.5 x 10 <sup>7</sup> TCID <sub>50</sub> /mL | None              |
| Cytomegalovirus                   | Live                       | Herpesviridae AD-169<br>ATCC VR-1788                              | 2.9 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL | None              |
| Epstein-Barr Virus                | Live                       | Herpesviridae, Lymphocryptovirus<br>P-3 ATCC VR-602               | 1.44 10 <sup>5</sup> copies/mL*              | None              |
| Hepatitis B Virus                 | Live                       | Clinical Sample DLS13-01459                                       | 1.2 x 10 <sup>4</sup> IU/mL                  | None              |
| West Nile Virus                   | Live                       | Flaviviridae, Flavivirus<br>B 956 [V-554-001-522]<br>ATCC VR-1267 | 2.3 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /mL | None              |
| Hepatitis C Virus                 | Live                       | Clinical Sample DLS14-08008                                       | 4.7 x 10 <sup>4</sup> IU/mL                  | None              |
| Mumps Virus                       | Live                       | Paramyxoviridae,<br>Rubulavirus Jones<br>ATCC VR-1438             | 7.1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL | None              |
| Measles                           | Live                       | Paramyxoviridae, Morbillivirus<br>Edmonston ATCC VR-24            | 1.5 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /mL | None              |
| Rubella                           | Live                       | Togaviridae, Rubivirus M33<br>ATCC VR-315                         | 1.5 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL | None              |
| Streptococcus pneumoniae          | Live                       | Slovakia 14-10 [29055]<br>ATCC 700677                             | 4.6 x 10 <sup>4</sup> CFU/mL                 | None              |
| Borrelia hermsii                  | Live                       | HS1 Serotype 26 ATCC BAA-2821                                     | 1:11 Dilution                                | None              |
| Yersinia pseudotuberculosis       | Live                       | IP2666 BEI NR-4371                                                | 1:11 Dilution                                | None              |
| Rickettsia australis              | Live                       | JC BEI NR-10454                                                   | 8.1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL | None              |

\*Concentration determined in plasma.

## WHOLE BLOOD REPRODUCIBILITY

The reproducibility of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test was tested at 3 sites using 3 lots of test devices twice a day for 5 days with 9 operators (3 per site). Three whole blood panel member types (negative, low positive - 2x limit of detection (LoD), and moderate positive – 5x LoD) were tested. Panel members were blinded per operator, run, and device lot to ensure that the results of the panel member types were unpredictable to the operator. Overall concordance across operators, sites, and device lots was 99.6% (95% CI 98.9-99.9%) for the negative specimen, 99.9% (95% CI 99.3-100.0%) for the low positive specimen and 100.0% (95% CI 99.5-100.0%) for the moderate positive specimen.



## CADAVERIC ORAL FLUID CLINICAL PERFORMANCE

### i. WHO Study

A total of 277 retrospective cadaveric specimens (collected in VTM) were tested in a study conducted by the World Health Organization; all samples were originally tested with a PCR test. Prior to testing with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test, all samples were re-tested with an EUA PCR test to confirm the original Ebola PCR result.

A total of 222 specimens negative with the original RT-PCR were re-tested on the EUA PCR. Of these specimens, 29 gave an invalid result, possibly because of a failure of the human gene target internal control due to poor specimen quality, and were excluded. Therefore, a total of 193 PCR negative specimens were included in the RDT evaluation.

Of the 55 specimens positive with the original RT-PCR and re-tested on the EUA PCR, 51 specimens passed as positive; 3 were negative and 1 gave an invalid result and were therefore excluded. Of the 51 positive specimens, 16 were tested in a manner inconsistent with the instructions for use and were therefore excluded from the study. A total of 35 positive specimens were included in the performance evaluation.

The performance of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test when compared to the EUA PCR is shown in the following table:

|                                           | Comparator PCR                            |                                           |
|-------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|
|                                           | Positive Percent Agreement (PPA) (95% CI) | Negative Percent Agreement (NPA) (95% CI) |
| <b>OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test</b> | 34/35<br>97.1%<br>(85.5 - 99.5)           | 193/193<br>100.00%<br>(98.1 - 100)        |

**Note:** The study also included testing of 16 samples that were diluted 1:4 in distilled water. The OraQuick® Ebola Rapid Antigen test correctly detected 14 out of these 16 samples as positive. The two samples that were incorrectly detected as being negative had high PCR Ct values representative of Ebola virus concentrations below the assay's LOD. These diluted samples are not included in the performance calculation.

### ii. CDC Study – Sierra Leone

CDC in collaboration with the Ministry of Health (MOH) has conducted a Field Evaluation of New Rapid Diagnostic Tests for Ebola Virus Disease in Sierra Leone that included the testing of cadavers. A total of 50 samples were tested with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test according to the instructions for use with cadaveric oral fluid using the direct sampling method. The 50 samples tested by OraQuick® RDTs were all negative by PCR. One sample initially produced an invalid result and was re-tested according to the instructions for use; the sample re-tested as negative. The following table includes a summary of the field study data:

| Date of testing  | Region | RDTs tested | Positive | Negative        | Invalid | PCR             |
|------------------|--------|-------------|----------|-----------------|---------|-----------------|
| January 10, 2016 | Kenema | 50          | 0        | 50 <sup>A</sup> | 0       | 50 <sup>B</sup> |

A) The control line on the OraQuick® device was not visualized and the test was interpreted as invalid. Upon repeat testing the; OraQuick® test was negative. A swab for PCR was collected and the samples were negative by PCR.

B) In the West African Outbreak PCR was performed in conjunction with the OraQuick® tests for all cadavers. The 50 samples tested by OraQuick® RDTs were all negative by PCR.

This study provided a Negative Percent Agreement (NPA) for the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test of 50/50 = 100% with a 95% Confidence Interval of 93 - 100%.

### iii. CDC Study – Guinea

In Guinea 334 oral swab samples were taken from cadavers and tested in parallel with PCR and with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Samples were collected between June 2015 and August 2015. All samples were negative by PCR and also tested negative by the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test.

### iv. CDC Study – Liberia

Additionally, 97 specimens from cadavers in Liberia were tested with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. Samples were parallel tested with either the CDC or the DOD EUA PCR. Samples were collected between May and June 2015 and tested with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test according to the instructions for use with cadaveric oral fluid. All samples tested were negative by PCR; three of these PCR negative samples resulted in an invalid test result with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. The samples were not retested with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test and were therefore excluded from the performance calculation below. All other PCR negative samples also resulted in a negative OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test result. This study provided a Negative Percent Agreement (NPA) for the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test of 94/94 = 100% with a 95% Confidence Interval of 96.1 to 100%.

### v. OraSure Technologies Inc. Study – Ebola Positive Contrived Oral Fluid Samples

The performance of the device was evaluated using twenty (20) Ebola contrived positive saliva samples as a surrogate for direct collect oral fluid and spiking the sample onto the device collection pad. Samples were contrived positive using gamma-irradiated Zaire ebolavirus, Mayinga, NR-31807 from BEI Resources. Ebola negative samples were included in the blinded test reads to control for bias. Percent Positive Agreement was 95%. One contrived positive sample at the 1.5 x LoD level was recorded as a negative result. The negative samples yielded expected results with 100% concordance. This study provided a Positive Percent Agreement (PPA) of 19/20 = 95% with a 95% Confidence Interval of 75.13 to 99.87%.

#### vi. OraSure Technologies Inc. Study - Cadaver Oral Fluid Samples in Viral Transport Media (VTM)

The specificity performance of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test in cadaveric oral fluid samples collected in Becton Dickinson (BD) Universal Viral Transport for Viruses, Chlamydiae, Mycoplasmas and Ureaplasmas and  $\Sigma$ -Virocult® Swab and Virus Transport Medium for the Collection of Virus Specimens was evaluated with 63 negative cadaveric oral fluid samples blinded with contrived positive oral fluid samples. OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test results were negative for all cadaveric oral fluid samples tested in both the BD VTM and  $\Sigma$ -Virocult VTM. All contrived samples were correctly identified as positive by the operators. The Negative Percent Agreement (NPA) for the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test was determined to be  $63/63 = 100\%$  with a 95% Confidence Interval of 94.3 to 100.0% in both the BD VTM and  $\Sigma$ -Virocult VTM.

#### CADAVERIC ORAL FLUID LIMIT OF DETECTION – LIVING DONORS

A Limit of Detection (LoD) range finding study was conducted with oral fluid collected from living donors with the BD Universal Transport System (3mL medium), the  $\Sigma$ -Virocult Transport System (1mL medium), and directly collected with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. For the direct collection with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test recombinant VP40 antigen was spiked directly on to the collection pad of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test after oral fluid collection and prior to insertion in to the Developer Vial. Recombinant VP40 antigen was spiked on the swab of the respective transport system after oral fluid collection and prior to placement in the transport medium. A total of 20 $\mu$ L was then placed in the sample port of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test prior to insertion of the device into the Developer Vial.

The tentative LoD for oral fluid directly collected from living donors with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test was 0.53 ng/test with a VP40 antigen concentration in oral fluid of 7.6 ng/mL. This concentration was confirmed as the LoD by 19 out of 20 replicates testing positive with the same recombinant VP40 antigen at this concentration.

The tentative LoD for oral fluid collected from living donors with the BD Universal Transport System was 0.217 ng/test with a VP40 antigen concentration in oral fluid of 465 ng/mL. This concentration was confirmed as the LoD by 20 out of 20 replicates testing positive with the same recombinant VP40 antigen at this concentration.

The tentative LoD for oral fluid collected from living donors with the  $\Sigma$ -Virocult® Transport System was 3.2 ng/test with a VP40 antigen concentration in oral fluid of 3200 ng/mL. This concentration was confirmed as the LoD by 20 out of 20 replicates testing positive with the same recombinant VP40 antigen at this concentration.

| Collector                                | LoD/Test<br>[Amount of rAG per Test] | LoD<br>[Concentration of rAG in<br>Oral Fluid <sup>B</sup> ] |
|------------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Direct Collection OraQuick®              | 0.53 ng/test <sup>A</sup>            | 7.6 ng/mL                                                    |
| BD Universal Viral Transport for Viruses | 0.217 ng/test                        | 465 ng/mL                                                    |
| $\Sigma$ -Virocult® Transport System     | 3.20 ng/test                         | 3200 ng/mL                                                   |

<sup>A</sup> Recombinant antigen, live and inactivated virus were tested in parallel with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test for use with whole blood. With whole blood the LoD of 0.53ng/test corresponded to an LoD of  $1.64 \times 10^6$  TCID50/mL.

<sup>B</sup> LoD concentration in oral fluid was calculated using the average volumes of oral fluid that is absorbed by each of the swabs/devices (i.e., 70  $\mu$ L for the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test flat pad, 70  $\mu$ L for the BD swab diluted into 3 mL of VTM and 50 $\mu$ L for the  $\Sigma$ -Virocult® swab diluted in 1 mL VTM) and the subsequent volume of 20 $\mu$ L of the VTM solution that was transferred to the device.

Additional testing has established that the analytical LoD in cadaveric oral fluid and live donor derived oral fluid is equivalent.

## CADAVERIC ORAL FLUID CROSS REACTIVITY

Cross reactivity of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test was evaluated by testing additional viral and bacterial pathogens. In this study, three (3) replicates were tested with the pathogens spiked into Ebola negative oral fluid (saliva as surrogate) at the concentrations listed below. None of the tested organisms produced false positive results in the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test at the concentration tested.

| Virus/Bacteria                     | Inactivated or Live | Type/Strain                                        | Concentration Tested                     | Reactivity |
|------------------------------------|---------------------|----------------------------------------------------|------------------------------------------|------------|
| Herpes Simplex Virus Type 1        | Live                | ATCC VR-260                                        | $2.7 \times 10^6$ TCID <sub>50</sub> /mL | None       |
| Herpes Simplex Virus Type 2        | Live                | ATCC VR-734                                        | $1.0 \times 10^6$ TCID <sub>50</sub> /mL | None       |
| Actinomyces viscosus               | Live                | ATCC 43146                                         | $2.9 \times 10^6$ CFU/mL                 | None       |
| Candida albicans                   | Live                | ATCC 18804                                         | $6.1 \times 10^6$ CFU/mL                 | None       |
| Staphylococcus aureus              | Live                | ATCC 6538                                          | $3.6 \times 10^7$ CFU/mL                 | None       |
| Staphylococcus epidermis           | Live                | ATCC 12228                                         | $3.9 \times 10^6$ CFU/mL                 | None       |
| Streptococcus pyogenes             | Live                | ATCC 19615                                         | $1.4 \times 10^7$ CFU/mL                 | None       |
| Streptococcus salivarius           | Live                | ATCC 7073                                          | $7.7 \times 10^6$ CFU/mL                 | None       |
| Streptococcus mutans               | Live                | ATCC 25175                                         | $2.0 \times 10^6$ CFU/mL                 | None       |
| Lactobacillus johnsonii            | Live                | ATCC 33200                                         | $1.9 \times 10^6$ CFU/mL                 | None       |
| Porphyromonas gingivalis           | Live                | ATCC 49417                                         | $1.7 \times 10^6$ CFU/mL                 | None       |
| Mycobacterium tuberculosis         | Live                | ATCC 25177                                         | $1.0 \times 10^6$ CFU/mL                 | None       |
| <i>Moraxella catarrhalis</i>       | Live                | Ne 11 [CCUG 353, LMG 11192, NCTC 11020] ATCC 25238 | $2.7 \times 10^7$ CFU/mL                 | None       |
| <i>Corynebacterium diphtheriae</i> | Live                | 5159 ATCC 13812                                    | $8.4 \times 10^6$ CFU/mL                 | None       |
| <i>Nocardia sp.</i>                | Live                | N1408 [QN360] ATCC 700034                          | $5.4 \times 10^6$ CFU/mL                 | None       |
| <i>Bacteroides oralis</i>          | Live                | VPI D27B-24 [NCTC 11459] ATCC 33269                | $5.1 \times 10^5$ CFU/mL                 | None       |
| <i>Chlamydomydia pneumoniae</i>    | Live                | AR-39 ATCC 53592                                   | $2.6 \times 10^6$ IFU/mL                 | None       |
| <i>Mycoplasma pneumonia</i>        | Live                | FH strain of Eaton Agent [NCTC 10119] ATCC 15531   | $2.6 \times 10^6$ IFU/mL                 | None       |
| <i>Bordetella pertussis</i>        | Live                | Tohama I ATCC BAA-589                              | $6.9 \times 10^6$ IFU/mL                 | None       |

Additional cross reactivity with the following organisms was performed for the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test for use with whole blood and no cross reactivity was observed at the tested concentration: Marburg, Crimean Congo Hemorrhagic Fever, Lassa, Rift Valley Fever, Yellow Fever (Vaccine Strain), Chikungunya virus, Influenza A, Influenza B, Rotavirus, Adenovirus, RSV, Enterovirus, Salmonella enterica, Salmonella typhi, Shigella dysenteriae, Pseudomonas aeruginosa, Vibrio cholera, Streptococcus pneumonia, Haemophilus influenza (meningitis), Leptospira, Neisseria meningitidis, Yersinia enterocolitica, Plasmodium falciparum (malaria), Plasmodium vivax (malaria), Trypanosoma cruzi, Rickettsia africae (protein), Bacteroides fragilis, Klebsiella pneumoniae, Enterococcus faecium, E. Coli, Vesicular Stomatitis Virus, HIV-1, Hepatitis A, Hepatitis B, Hepatitis C, Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, West Nile, Mumps, Measles, Rubella, Borrelia hermsii, Yersinia pseudotuberculosis, Rickettsia australis, Dengue. However, the test reacts with Ebola Sudan and Ebola Bundibugyo.

### CADAVERIC ORAL FLUID INTERFERING SUBSTANCES

The OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test was evaluated with the following interfering substances present in negative oral fluid and oral fluid spiked with recombinant antigen (rAg) at 2.0 X the LoD in order to assess their potential effect on the assay performance as per CLSI guidelines EP17-A2<sup>4</sup>. For Toothpaste, Mucin and Leukocytes testing was completed on three (3) oral fluid samples each tested at n=2 replicates for each condition.

The concentration for toothpaste could not be analytically quantified, but duration of interference use was two (2) minutes and then a thirty (30) minute wait before direct collection with the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test. At the Mucin 20mg/mL test concentration there was one (1) false positive in negative oral fluid test group and (1) false negative in the rAg spiked oral fluid test group. No interference was noted at the 15mg/mL test concentration.

| Interfering Substances | Target Testing Concentration | Reactivity |
|------------------------|------------------------------|------------|
| Toothpaste             | n/a                          | None       |
| Mucin                  | 20 mg/mL                     | Reactive   |
|                        | 15 mg/mL                     | None       |
| Leukocytes             | 6.12 x 10 cells / L          | None       |

### CADAVERIC ORAL FLUID REPRODUCIBILITY

The reproducibility of the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test was tested at 3 sites using 3 lots of test devices twice a day for 5 days with 9 operators (3 per site). Three VTM Oral Fluid (live donor saliva as surrogate) panel member types (negative, low positive - 2x limit of detection (LoD), and moderate positive – 5x LoD) were tested. Panel members were blinded per operator, run, and device lot to ensure that the results of the panel member types were unpredictable to the operator. Overall concordance across operators, sites, and device lots for VTM oral fluid was 99.9% (95% CI 99.3-100.0%) for the negative specimen, 99.8% (95% CI 99.1-100.0%) for the low positive specimen and 100.0% (95% CI 99.5-100.0%) for the moderate positive specimen.

Three Direct Collect Oral Fluid (live donor saliva as surrogate) panel member types (negative, low positive - 2x limit of detection (LoD), and moderate positive – 5x LoD) were also tested. Panel members were blinded per operator, run, and device lot to ensure that the results of the panel member types were unpredictable to the operator. Overall concordance across operators, sites, and device lots for direct collect oral fluid was 98.1% (95% CI 97.0-99.0%) for the negative specimen, 95.2% (95% CI 93.5-96.5%) for the low positive specimen and 99.4% (95% CI 98.6-99.8%) for the moderate positive specimen.

# BIBLIOGRAPHY

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
3. *EMERGENCY GUIDELINE Implementation and management of contact tracing for Ebola virus disease* ([http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/185258/1/WHO\\_EVD\\_Guidance\\_Contact\\_15.1\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/185258/1/WHO_EVD_Guidance_Contact_15.1_eng.pdf?ua=1)) issued by the World Health Organization (WHO) and the Centers for Disease Control (CDC).

| EXPLANATION OF SYMBOLS                                                            |                                         |                                                                                   |                                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|
|  | Batch Code                              |  | <i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device |
|  | Catalog Number                          |  | Manufacturer                              |
|  | Caution, Consult Accompanying Documents |  | Part Number                               |
|  | Use By                                  |  | Temperature Limitation                    |
|                                                                                   |                                         |  | Medical Prescription                      |

For Technical or Customer Service within the United States, phone (800) ORASURE (800-672-7873).  
For customers outside the United States, phone +(001) 610 882 1820 or go to [www.OraSure.com](http://www.OraSure.com)



## **OraSure Technologies, Inc.**

220 East First Street  
Bethlehem, PA 18015 USA  
(800) ORASURE (800-672-7873)  
(610) 882-1820  
[www.OraSure.com](http://www.OraSure.com)

Critical reagents in the OraQuick® Ebola Rapid Antigen Test are being supplied by:

- the Viral Hemorrhagic Fever Consortium, or "VHFC" ([www.VHFC.org](http://www.VHFC.org)). The VHFC reagents were developed with the support of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases of the National Institutes of Health ("NIH/NIAD"). VHFC members Autoimmune Technologies LLC and Zolgen Labs LLC manufacture the critical reagents.
- the Biological Defense Research Directorate at the United States Navy Medical Research Center (NMRC).



OraSure Technologies, Inc.

Item# 3001-2812-70  
rev. 10/24  
FRE



## Test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola Lettre au client

Cher client,

Merci d'avoir décidé d'utiliser le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. La vente, la distribution et l'utilisation de ce produit sont limitées comme indiqué dans la notice du produit. En achetant ce dispositif, vous agissez en tant que représentant d'un laboratoire clinique et acceptez que vous ou un quelconque de vos consignataires respectiez les restrictions suivantes concernant la vente, la distribution et l'utilisation du dispositif :

- Les hôpitaux ou laboratoires cliniques américains soucieux d'un patient ayant été potentiellement exposé au virus Ebola devront contacter les autorités de santé publique locales et/ou nationales. Ces agences travailleront avec le CDC pour déterminer si un patient est ou non une personne sous surveillance (PUI en anglais) ; seules les PUI doivent être testées pour Ebola.
- Suivez les recommandations du CDC en matière de collecte, test et transport avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola.
- Un test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola pour sang total et fluide oral cadavérique ne DOIT pas être effectué si le patient ne remplit pas les critères cliniques et épidémiologiques pour tester les échantillons suspects.
- 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.
- La vente du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola pour sang total et fluide oral cadavérique est limitée aux professionnels de laboratoire ou de la santé qui sont correctement équipés, formés et capables de tels tests.
  - Ces laboratoires et établissements DOIVENT avoir un processus en place pour communiquer les résultats du test aux professionnels de la santé et autorités de santé publique compétentes, s'il y a lieu.
  - L'ensemble du personnel des laboratoires et établissements utilisant le dosage DOIT être adéquatement formé au test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola et utiliser le matériel de laboratoire et personnel approprié en manipulant cette trousse.
- Des résultats négatifs ne permettent pas d'exclure une infection par le virus Ebola et ne doivent pas être utilisés comme seule base aux décisions de prise en charge du patient. L'identification définitive de la maladie à virus Ebola exige des tests supplémentaires et des procédures de confirmation en consultation avec les autorités de santé publique ou autres autorités devant être prévenues. Le diagnostic de la maladie à virus Ebola doit être posé sur la base des antécédents, des signes et symptômes, de la probabilité d'exposition et d'autres analyses de laboratoire, outre l'identification du virus Ebola.
- Les délais de lecture inférieurs à 30 minutes affectent sensiblement la performance du dispositif avec des échantillons faiblement positifs. Il est par conséquent indispensable - sauf échantillons sont clairement positifs - de ne pas lire le résultat avant 30 minutes. Une lecture en dessous de 30 minutes peut empêcher l'identification correcte d'échantillons faiblement positifs. Par conséquent, tout résultat négatif DOIT être lu à 30 minutes.

**COMPÉTENCES DES OPÉRATEURS :** En tant que laboratoire ou installation envisageant d'utiliser le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola, vous devez utiliser les contrôles de la trousse du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola et le panel de référence visuelle OraQuick® Ebola. Tous les nouveaux opérateurs DOIVENT être capables d'interpréter correctement tous les dispositifs du panel de référence visuelle OraQuick® Ebola avant d'utiliser le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. La performance clinique de ce dispositif a été établie en fonction de l'aptitude de l'opérateur à lire les intensités visuelles au trait T, à tous les niveaux, y compris les bandes très faibles représentant de faibles taux d'antigènes.

Référez-vous à la notice d'utilisation du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola pour les avertissements, précautions, informations sur le principe de fonctionnement du test, le mode d'emploi du dispositif, l'interprétation des résultats et les limites du test ou les circonstances dans lesquelles les contrôles de la trousse OraQuick® Ebola doivent être utilisés.

En cas de questions, appelez le (800) ORASURE (800-672-7873) aux États-Unis ou le +(001) 610-882-1820 en dehors des États-Unis. Vous pouvez aussi aller sur le site [www.OraSure.com](http://www.OraSure.com).

Cordialement,

OraSure Technologies Inc.

BLANK PAGE



**Pour usage diagnostique *in vitro*****COMPLEXITÉ : élevée****NOM ET INDICATION**

Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola est un immuno-essai diagnostique à usage unique *in vitro* pour la détection qualitative d'antigènes de virus appartenant au genre Ebola qui ne fait pas la distinction entre ces virus. Des tests avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola doivent seulement être effectués lorsque les autorités de santé publique ont déterminé le besoin de ce test. Les tests de dépistage de la maladie à virus Ebola doivent être réalisés conformément aux directives actuelles des autorités de santé publique appropriées qui traitent des conditions de biosécurité appropriées, de l'interprétation de résultats de test et de la coordination des tests, des résultats et de la prise en charge des patients avec les autorités de santé publique. Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola s'utilise sur des échantillons provenant de :

- personnes présentant un facteur de risque épidémiologique avec des signes et symptômes de la maladie à virus Ebola ou
- personnes récemment décédées présentant un facteur de risque épidémiologique dont on soupçonne qu'elles sont mortes de la maladie à virus Ebola.

La maladie à virus Ebola est une pathologie à déclaration obligatoire à l'échelle nationale et elle doit être signalée aux autorités de santé publique, conformément aux réglementations locales, régionales et nationales.

Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola s'utilise avec des échantillons de sang total prélevé par ponction veineuse ou digitale comme aide au diagnostic de la maladie à virus Ebola chez des patients suspectés d'avoir cette maladie ou en présentant les signes ou symptômes et qui ont un ou plusieurs facteurs de risque épidémiologique d'exposition au virus Ebola (par exemple, contact avec un cas connu ou suspecté, voyage dans une zone géographique au moment où la transmission du virus Ebola était connue ou suspectée). La performance du dispositif avec du sang total prélevé par ponction digitale et positif au virus Ebola a été établie sur un modèle primate non humain.

Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola s'utilise avec du fluide oral cadavérique prélevé sur des personnes récemment décédées présentant des facteurs de risque épidémiologique, dont on soupçonne qu'elles sont mortes de la maladie à virus Ebola. Le fluide oral cadavérique doit être prélevé directement avec le dispositif ou avec des écouvillons dans un milieu de transport viral. Les résultats de test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola sont destinés à faciliter la détermination de la maladie à virus Ebola comme cause du décès pour informer sur les décisions concernant la manipulation en toute sécurité des cadavres afin de prévenir la transmission de la maladie.

Les résultats de test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola sont présumés ; l'identification définitive de la maladie à virus Ebola exige l'exécution de tests additionnels et des procédures de confirmation en consultation avec les autorités de santé publique et/ou d'autres autorités qui doivent être tenues informées.

Des résultats négatifs ont été observés chez des personnes présentant de faibles concentrations de virus en circulation ; par conséquent, un résultat négatif ne peut à lui seul exclure une infection par des virus appartenant au genre Ebola.

Le taux d'antigènes du virus Ebola qui serait présent dans l'échantillon clinique de personnes présentant une infection systémique précoce est inconnu. La performance du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola est fonction du taux d'antigènes du virus Ebola dans le patient ; par conséquent, le test n'est pas destiné à une utilisation au sein d'une population asymptomatique aux fins de dépistage de masse (par exemple, comme seul moyen de contrôle de la maladie à virus Ebola dans les aéroports ou autres postes frontières) ou pour tester des personnes à risque d'exposition sans signes observables d'infection.

Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola est destiné à une utilisation par un personnel expérimenté qui a suivi une formation documentée spécifique au dispositif proposée par OraSure Technologies Inc. et une formation à l'utilisation correcte de l'équipement de protection individuelle (EPI) recommandé, et qui a des compétences dans les tests diagnostiques de maladies infectieuses, y compris la manipulation sans danger d'échantillons cliniques potentiellement contenant le virus Ebola. Le test est destiné à une utilisation par des professionnels de laboratoire médical ou des professionnels de santé qui ont démontré la disponibilité d'équipement de biosécurité, l'accès à des installations de confinement des patients et des procédures établies (par exemple, procédures opératoires standard) pour la coordination des tests, des résultats et de la prise en charge des patients avec les autorités de santé publique conformément aux recommandations et directives locales et nationales.

**LIMITES SPÉCIFIQUES (voir les limites additionnelles, à la page 8)**

- Les hôpitaux ou laboratoires cliniques américains soucieux d'un patient ayant été potentiellement exposé au virus Ebola devront contacter les autorités de santé publique locales et/ou nationales. Ces agences travailleront avec le CDC pour déterminer si un patient est ou non une personne sous surveillance (PUI en anglais) ; seules les PUI doivent être testées pour Ebola.
- Suivre les recommandations du CDC en matière de collecte, test et transport avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola.
- Un test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola pour sang total et fluide oral cadavérique ne DOIT pas être effectué si le patient ne remplit pas les critères cliniques et épidémiologiques pour tester les échantillons suspects.
- 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.

- **La vente du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola pour sang total et fluide oral cadavérique est limitée aux professionnels de laboratoire ou de la santé qui sont correctement équipés, formés et capables de tels tests.**
  - Ces laboratoires et établissements **DOIVENT** avoir un processus en place pour communiquer les résultats du test aux professionnels de la santé et autorités de santé publique compétentes, s'il y a lieu.
  - L'ensemble du personnel des laboratoires et établissements utilisant le dosage **DOIT** être adéquatement formé au test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola et utiliser le matériel de laboratoire et personnel approprié en manipulant cette trousse.
- **Des résultats négatifs ne permettent pas d'exclure une infection par le virus Ebola et ne doivent pas être utilisés comme seule base aux décisions de prise en charge du patient. L'identification définitive de la maladie à virus Ebola exige des tests supplémentaires et des procédures de confirmation en consultation avec les autorités de santé publique ou autres autorités devant être prévenues. Le diagnostic de la maladie à virus Ebola doit être posé sur la base des antécédents, des signes et symptômes, de la probabilité d'exposition et d'autres analyses de laboratoire, outre l'identification du virus Ebola.**

## 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 genres de la famille de virus à ARN appelée « Filoviridae ». Il y a quatre espèces de virus Ebola affectant les êtres humains : les souches du virus Bundibugyo (BDBV), du virus Soudan (SUDV), du virus Forêt de Taï (TAFV) et du virus Ebola (EBOV). La présence d'antigènes du virus Ebola indique que la personne peut être actuellement infectée et capable de transmettre le virus.

Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola 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

Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® est un immuno-essai manuel à lecture visuelle pour la détection qualitative du virus Ebola dans le sang total humain obtenu par ponction veineuse ou digitale, et dans le fluide oral cadavérique. Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola se compose d'un dispositif de test à usage unique et d'un flacon contenant un volume prémesuré de solution révélatrice tamponnée. Il consiste en un sachet scellé comportant deux compartiments distincts – un pour chaque composant. Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola utilise une procédure d'immuno-essai à flux latéral propriétaire.

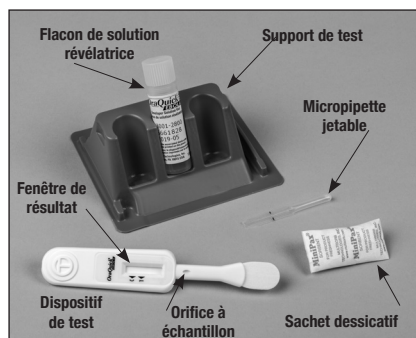
La bandelette réactive du test (dosage), visible par la fenêtre de résultat du dispositif de test, comprend une série d'éléments : la couche du bloquant, la couche du conjugué, la membrane de nitrocellulose, et enfin la couche absorbante. L'exécution du dosage se fait par hydratation et transport des 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.

Un échantillon de sang total (ponction digitale ou veineuse) est prélevé à l'aide d'une micropipette en plastique ou d'une pipette de laboratoire étalonnée et transféré au dispositif, lequel est ensuite plongé dans le flacon de solution révélatrice. Pour les échantillons de fluide oral cadavérique, il existe deux manières d'effectuer les prélèvements : 1) passer un écouvillon sur la limite gingivale ou les tissus mous du palais au fond de la gorge avec la spatule du dispositif, puis insérer le dispositif directement dans la solution révélatrice ou 2) passer un écouvillon recommandé sur la limite gingivale ou les tissus du palais mou avec un écouvillon recommandé avant de l'insérer dans le milieu de transport viral recommandé. Lorsqu'un milieu de transport viral est utilisé, l'échantillon est prélevé dans le tube de milieu de transport au moyen d'une pipette de laboratoire étalonnée puis transféré au dispositif, avant insertion de ce dernier dans le flacon de 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 rouge à violet. Si l'échantillon ne contient pas le virus Ebola, les complexes marqués ne se fixent pas 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 rouge à violet apparaît dans la zone de contrôle (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 à la page 8 de cette notice d'utilisation). Les résultats positifs peuvent être interprétés dès que des traits rouges à violets 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

La trousse de test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® se présente comme suit :

| Composants du numéro de trousse                                                                                                                                                                                                        | Trousse 25 tests 1001-0509 |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Sachet compartimenté<br>chacun contenant :<br>Dispositif de test (1)<br>Sachet dessiccatif (1)<br>Flacon de solution révélatrice (1)<br>(chaque flacon contient 1 ml de sérum physiologique tamponné contenant un agent antimicrobien) | 25                         |
| Supports de test                                                                                                                                                                                                                       | 25                         |
| Micropipettes en plastique                                                                                                                                                                                                             | 30                         |
| Mode d'emploi                                                                                                                                                                                                                          | 1                          |
| Guide de référence rapide pour fluide oral cadavérique                                                                                                                                                                                 | 1                          |
| Guide de référence rapide pour sang total                                                                                                                                                                                              | 1                          |
| Feuille d'information du patient                                                                                                                                                                                                       | 30                         |
| Feuille d'information des parents et des aidants                                                                                                                                                                                       | 30                         |



## MATÉRIEL REQUIS ET DISPONIBLE COMME ACCESSOIRE DE LA TROUSSE

### Contrôles de la trousse de rapide des antigènes OraQuick® Ebola 1001-0508

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

### Panel de référence visuelle OraQuick® Ebola 1001-0537

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

Matériel requis pour le prélèvement de l'échantillon de sang total par ponction veineuse ou

Matériel requis pour le prélèvement de l'échantillon de sang total par ponction digitale

## MATÉRIEL EN OPTION NON INCLUS DANS LA TROUSSE

Pipette de laboratoire étalonnée capable de distribuer 20 µl

Embouts de pipette jetables

Système de transport viral universel BD pour virus, chlamydia, mycoplasmes et uréaplasmes (220258)

Système Σ-Virocult® (MW951S)

## AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Utiliser exclusivement sur ordonnance.
- 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 et/ou de l'OMS.
- 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 Precautions<sup>1</sup>, Infection Control for Viral Hemorrhagic Fevers in the African Health Care Setting<sup>2</sup> 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>), et au Guide pratique sur l'application du règlement relatif au transport des matières infectieuses 2021-2022 (<https://www.who.int/publications/i/item/9789240019720>).
- Tout le matériel et tous les déchets biologiques dangereux DOIVENT être éliminés conformément aux politiques et lois nationales, régionales et locales.

- 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.
- Les délais de lecture inférieurs à 30 minutes affectent sensiblement la performance du dispositif avec des échantillons faiblement positifs. Il est par conséquent indispensable - sauf échantillons sont clairement positifs - de ne pas lire le résultat avant 30 minutes. Une lecture en dessous de 30 minutes peut empêcher l'identification correcte d'échantillons faiblement positifs. Par conséquent, tout résultat négatif DOIT être lu à 30 minutes.
- Les échantillons NE DOIVENT PAS être prédilué. Une prédilution peut causer des faux négatifs.
- Ce test n'est pas prévu pour être utilisé comme un test de dépistage sur des patients sans signes et symptômes d'une infection par Ebola ou pour surveiller des personnes sous traitement.
- Ne pas boire, manger ni fumer là où les échantillons ou les réactifs du test sont manipulés.
- Lire intégralement la notice d'utilisation avant d'utiliser le produit.
- Suivre scrupuleusement ces instructions lors de l'utilisation du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola sous peine de fausser les résultats.
- 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.
- Les personnes qui ont été vaccinées contre Ebola peuvent fausser les résultats.

#### Précautions de manipulation du dispositif

- Utiliser une seule fois toutes les micropipettes, les embouts de pipette, les supports de test, les dispositifs de test et les flacons de solution révélatrice et les jeter en bonne et due forme (voir *Avertissements et précautions*). **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 trousses 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

Conserver les tests de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola non ouverts entre 5 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.

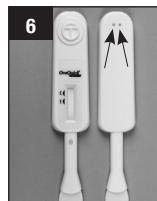
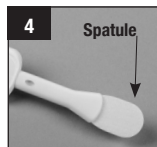
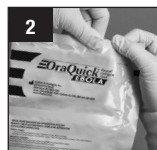
#### MODE D'EMPLOI

##### PRÉPARATIFS GÉNÉRAUX

1. Suivre la section *Avertissements et précautions* dans ce mode d'emploi.
2. Rassembler le matériel nécessaire.
3. Avant utilisation, laisser la température des tests de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola 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*).
8. Retirer le dispositif du sachet. Tenir le dispositif au niveau du boîtier en plastique, **PAS** de la spatule (*photo 4*). Placer le dispositif sur une surface plane propre. S'assurer qu'un sachet dessicatif accompagne le dispositif (*photo 5*). Dans le cas contraire, jeter le tout et se procurer un nouveau sachet pour le test.

**REMARQUE : NE PAS fermer les deux trous à l'arrière du dispositif avec des étiquettes ou un objet quelconque sous peine de fausser le résultat (*photo 6*).**

#### Deux compartiments



Deux trous ne devant pas être fermés

## PROCÉDURE DE PRÉLÈVEMENT D'ÉCHANTILLONS ET DE TEST

Le test de détection rapide des antigènes OraQuick® Ebola peut servir à tester des échantillons de sang total obtenus par ponction veineuse ou par ponction digitale ou des échantillons de fluide oral. Voir ci-dessous la procédure de test spécifique pour chacun.

### PROCÉDURE POUR SANG TOTAL PRÉLEVÉ PAR PONCTION DIGITALE ET PONCTION VEINEUSE

#### ÉTAPE 1 : PRÉLÈVEMENT

##### ÉTAPE 1A : SANG TOTAL PRÉLEVÉ PAR PONCTION DIGITALE

1. Nettoyer le doigt de la personne à tester avec un tampon antiseptique. Laisser sécher complètement le doigt ou l'essuyer avec un tampon de gaze stérile. Percer la peau avec une lancette stérile, juste à côté du centre du coussinet tactile et perpendiculairement aux creux de l'empreinte digitale. Appuyer légèrement à côté du point de ponction (*photo 7*). Éviter de pincer agressivement le doigt pour le faire saigner. Essuyer cette première goutte de sang avec un tampon de gaze stérile. Attendre qu'une nouvelle goutte de sang se forme.
2. Saisir une micropipette en plastique inutilisée par sa poignée (*photo 8*). Tenir la micropipette à l'horizontale et toucher la goutte de sang avec le bout de la micropipette (*photo 9*). Le remplissage de la pipette se fait automatiquement ; ne jamais pincer la micropipette durant le prélèvement. Pour éviter les bulles, l'embout de la pipette doit maintenir le contact avec l'échantillon sanguin jusqu'à ce qu'elle soit remplie. S'assurer que la micropipette est remplie de sang jusqu'au trait indicateur et qu'aucune bulle n'est présente (*photo 10*). Si une bulle est présente, jeter l'échantillon recueilli et en prélever un autre à l'aide d'une nouvelle micropipette.

**REMARQUE :** Si la micropipette tombe par terre ou qu'elle touche une autre surface, la jeter dans un récipient pour déchets biologiques dangereux. Se procurer une micropipette neuve pour le prélèvement de l'échantillon sanguin.

##### ÉTAPE 1B : SANG TOTAL PRÉLEVÉ PAR PONCTION VEINEUSE

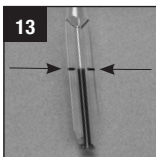
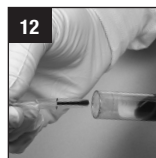
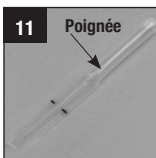
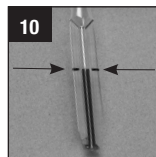
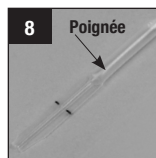
1. En procédant par phlébotomie veineuse standard, prélever un échantillon de sang total dans un tube contenant de l'EDTA (bouchon lavande). Si l'échantillon n'est pas testé au moment du prélèvement, il peut être stocké entre 2 et 30 °C pendant 24 heures maximum.
2. Avant le test, agiter doucement le tube de sang en le retournant plusieurs fois pour garantir un échantillon homogène.
- 3a. Saisir une micropipette inutilisée par sa poignée (*photo 11*). Placer l'embout de la micropipette dans le tube de sang. Le remplissage de la pipette se fait automatiquement ; ne jamais pincer la micropipette durant le prélèvement (*photo 12*). Pour éviter les bulles, l'embout de la pipette doit maintenir le contact avec l'échantillon sanguin jusqu'à ce qu'elle soit remplie. S'assurer que la micropipette est remplie de sang jusqu'au trait indicateur et qu'aucune bulle n'est présente (*photo 13*). Si une bulle est présente, jeter l'échantillon recueilli et en prélever un autre à l'aide d'une nouvelle micropipette.

**REMARQUE :** Si la micropipette tombe par terre ou qu'elle touche une autre surface, la jeter dans un récipient pour déchets biologiques dangereux. Se procurer une micropipette neuve pour le prélèvement de l'échantillon sanguin.

- 3b. Une pipette de laboratoire étalonnée capable de distribuer 20 µl, avec un embout de 20 µl, peut être utilisée à la place de la micropipette. Après avoir prélevé l'échantillon, inspecter l'embout pour s'assurer qu'il ne contient pas de bulles (*photo 14*). Si une bulle est présente, jeter l'échantillon recueilli et en prélever un autre à l'aide d'un nouvel embout.

#### ÉTAPE 2 : TEST

1. Déposer l'échantillon sanguin dans l'orifice à échantillon du dispositif en appuyant la micropipette ou en relâchant l'échantillon de la pipette étalonnée directement au-dessus de cet orifice (*photos 15-16*). **Les échantillons DOIVENT seulement être appliqués directement sur le dispositif et ne doivent PAS être insérés à la pipette dans le flacon de solution révélatrice.**
2. Plonger la spatule du dispositif à fond dans le flacon de solution révélatrice (*photo 17*). 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 18*).
3. Commencer à minuter le test (*photo 19*). **NE PAS** retirer le dispositif du flacon avant la fin du test. Un fluide rouge apparaîtra et remontera dans la fenêtre de résultat. Il est possible que le fluide rouge se décolore progressivement à mesure qu'agit le révélateur du test (*photo 20*). Lire les



résultats à un endroit très bien éclairé. Les résultats positifs peuvent être interprétés dès que des traits sont visibles dans la zone de test (T) et la zone de contrôle (C) (sous 4 minutes parfois). **Tous les résultats négatifs DOIVENT être lus 30 minutes après avoir inséré le dispositif dans le flacon de solution révélatrice. Une lecture à moins de 30 minutes affectera la performance du dispositif et empêchera l'identification correcte d'échantillons faiblement positifs.**

4. Voir la section *Résultat du test et interprétation* à la page 8 de cette notice d'utilisation.

## PROCÉDURE AVEC FLUIDE ORAL CADAVÉRIQUE – PRÉLÈVEMENT DIRECT

### ÉTAPE 1 : PRÉLÈVEMENT

1. Retirer le dispositif du sachet. Tenir le dispositif au niveau du boîtier en plastique, **PAS** de la spatule (photo 21). S'assurer qu'un sachet dessicatif accompagne le dispositif (photo 22). Dans le cas contraire, jeter le tout et se procurer un nouveau sachet 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 23 et 24). 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 25 et 26).

**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 (Etape 2 ci-dessous), il pourra être placé dans un sachet de transfert alu. **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 peut être conservé entre 15 et 40 °C pendant 60 minutes ou entre 2 et 8 °C pendant 22 heures maximum avant le test.

### ÉTAPE 2 : TEST

1. Pour tester des échantillons qui étaient conservés sur de la glace, 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 27). 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 28).
3. Commencer à minuter le test (photo 29). **NE PAS** retirer le dispositif du flacon avant la fin du test. Un fluide violet apparaîtra et remontera dans la fenêtre de résultat. Ce fluide violet disparaîtra progressivement à mesure qu'agira le révélateur du test (photo 30). 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* à la page 8 de cette notice d'utilisation.

## PROCÉDURE AVEC FLUIDE ORAL CADAVÉRIQUE –

### MILIEU DE TRANSPORT

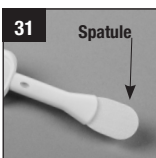
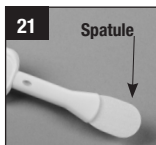
#### ÉTAPE 1 : PRÉLÈVEMENT

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 peuvent être conservés entre 2 et 40 °C pendant 24 heures maximum. Si l'échantillon ne peut pas être testé dans les 24 heures après le prélèvement, le milieu de transport peut être congelé à -70 °C avec 3 cycles de congélation/décongélation.

#### 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. Enlever l'écouvillon de prélèvement du tube.
2. Retirer le dispositif du sachet. Tenir le dispositif au niveau du boîtier en plastique, **PAS** de la spatule (photo 31). Placer le dispositif sur une surface plane propre. S'assurer qu'un sachet dessicatif accompagne le dispositif (photo 32). Dans le cas contraire, jeter le tout et se procurer un nouveau sachet 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 33).



Deux trous ne devant pas être fermés



- À l'aide d'une pipette de laboratoire étalonnée équipée d'un embout jetable, prélever doucement 20 µl d'échantillon dans le tube de milieu de transport viral (photo 34). Inspecter l'embout pour s'assurer qu'il n'y a pas de bulles dans l'échantillon (photo 35). Si une bulle est présente, jeter l'échantillon et en prélever un autre à l'aide d'un nouvel embout de pipette.
- Déposer l'échantillon cadavérique dans l'orifice à échantillon du dispositif en insérant l'embout de pipette directement au-dessus de cet orifice (photo 36) avant de libérer l'échantillon.
- Plonger la spatule du dispositif à fond dans le flacon (photo 37). 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 38).
- Commencer à minuter le test (photo 39). **NE PAS** retirer le dispositif du flacon avant la fin du test. Un fluide violet apparaîtra et remontera dans la fenêtre de résultat. Ce fluide violet disparaîtra progressivement à mesure qu'agira le révélateur du test (photo 40). 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* à la page 8 de 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

Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola inclut un contrôle de procédure qui démontre la validité du dosage. Un trait rouge à 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* à la page 8 de cette notice d'utilisation).

#### Contrôle qualité externe

Les contrôles de la trousse du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola doivent être utilisés avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick®. 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 le contrôle négatif au virus Ebola produira un résultat de test négatif (voir la section *Résultat du test et interprétation* à la page 8 de cette notice d'utilisation). L'utilisation de réactifs de contrôle fabriqués par toute autre source risque de ne pas produire les résultats requis et, par conséquent, elle ne satisfera pas aux exigences d'un programme d'assurance qualité adéquat pour le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. Si des contrôles externes ne produisent pas les résultats escomptés, aucun test patient ne devra être effectué. 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 trousses de tests,
- À chaque réception d'un nouvel envoi de trousses de tests,
- Si la température de la zone de stockage de la trousse de test se situe en dehors de la plage 5–30 °C, et
- À intervalles périodiques, comme indiqué dans l'établissement utilisateur et par les lois nationales, régionales et locales.

#### 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 du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. Il incombe à chaque laboratoire d'utiliser le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola 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 panel de référence visuelle OraQuick® Ebola est disponible séparément et s'utilise avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. Le panel de référence visuelle OraQuick® Ebola inclut les résultats de test potentiels, y compris négatif, faiblement positif et le seuil de détection du dispositif. Les nouveaux opérateurs doivent pouvoir interpréter correctement tous les dispositifs dans le panel de référence visuelle OraQuick® Ebola avant d'utiliser le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola avec des échantillons patient. Une impossibilité de lecture à faible intensité peut se solder par une impossibilité de détection de échantillons près du seuil de détection du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola 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) (sous 4 minutes parfois). 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 rouge à violet apparaît dans la zone C et AUCUN trait n'apparaît à côté de la zone T (photos 41a/b)

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 rouge à violet apparaît dans la zone C et un trait rouge à violet 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 42a/b, 43a/b et 44a/b).

Un résultat de test positif est interprété comme la détection d'antigènes du virus Ebola dans l'échantillon. Le patient ou cadavre est supposé positif pour les antigènes du virus Ebola. L'identification définitive de la maladie à virus Ebola exige des tests supplémentaires et des procédures de confirmation en consultation avec les autorités de santé publique ou autres autorités devant être prévenues.

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](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 :

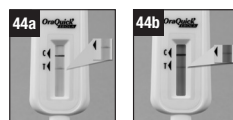
- AUCUN trait rouge à violet n'apparaît dans la zone C (photo 45) ou
- Un fond rouge à violet dans la fenêtre de résultat rend la lecture difficile après 30 minutes (photo 46) , ou
- Tout trait partiel d'un côté de la zone C ou T (photos 47a/b et 48a/b) .

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.**

Pour signaler un problème au niveau du dispositif, contacter le service client OraSure Technologies à 1-800-orsure aux États-Unis ou au +(001) 610-882-1820 en dehors des États-Unis. Vous pouvez aussi aller sur <http://www.orsure.com/contact/contact-customer-service.asp>.

### 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. Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola ne doit pas être utilisé si le patient ne remplit pas les critères cliniques et épidémiologiques pour tester des échantillons suspects.
4. Les résultats du dosage permettent l'identification présumée du virus Ebola. L'identification définitive du virus Ebola exige des tests supplémentaires et des procédures de confirmation en consultation avec les autorités de santé publique ou autres autorités devant être prévenues. Le diagnostic du virus Ebola doit être posé sur la base des antécédents, des signes et symptômes, de la probabilité d'exposition et d'autres analyses de laboratoire, outre l'identification du virus Ebola.
5. Des résultats négatifs ne permettent pas d'exclure une infection par le virus Ebola et ne doivent pas être utilisés comme seule base aux décisions de prise en charge du patient. L'identification définitive de la maladie à virus Ebola (MVE) exige des tests supplémentaires et des procédures de confirmation en consultation avec les autorités de santé publique ou autres autorités devant être prévenues.
6. La réactivité croisée potentielle du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola avec les vaccins ou les médicaments développés pour Ebola n'a pas été évaluée. Les échantillons de patients 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.
7. Il est possible que les échantillons de sang total contenant des concentrations de facteur rhumatoïde supérieures à 1 050 UI/ml causent des faux positifs.
8. Il est possible que les échantillons de fluide oral cadavérique contenant des concentrations de mucine supérieures à 15 mg/ml causent des faux positifs.
9. La réactivité croisée avec d'autres organismes que ceux testés dans l'étude de réactivité croisée n'a pas été évaluée.
10. Les performances cliniques de détection des autres virus Ebola ne sont pas connues mais pourraient être inférieures à celles de l'Ebolavirus Zaïre. Toutefois, une réactivité croisée a été démontrée pour les souches du Soudan et de Bundibugyo.





## CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

### PERFORMANCE CLINIQUE - SANG TOTAL

La performance du dispositif avec du sang total prélevé par ponction digitale et positif au virus Ebola a été établie sur un modèle primate non humain.

#### i. Étude en Sierra Leone

Au total, 75 échantillons de sang total résiduels rétrospectifs recueillis auprès de patients en Afrique de l'Ouest (Sierra Leone) durant la flambée épidémique d'Ebola de 2014-2015 ont été testés avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick®. Ces échantillons ont été testés en Afrique de l'Ouest en utilisant un dosage RT-PCR en temps réel du virus Ebola dans le cadre de l'autorisation d'utilisation d'urgence (EUA) délivrée par la FDA (États-Unis). Les échantillons de sang total ont ensuite été stockés au congélateur jusqu'au moment du test avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. Le test a été effectué en aveugle de manière randomisée. La performance du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola comparée aux résultats du dosage RT-PCR en temps réel du virus Ebola dans le cadre de l'EUA (le comparateur) a été calculée d'après des résultats de test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® lus à 30 minutes.

#### Pourcentage de concordance contre le comparateur RT-PCR – global et stratifié par Ct

|     | Plages Ct spécifiques | Pourcentage de concordance  | IC à 95 % <sup>1</sup> |
|-----|-----------------------|-----------------------------|------------------------|
| PPA | 15 – 23               | 100 % (16/16)               | 79,41 % - 100,0 %      |
|     | 24 – 34 <sup>2</sup>  | 55,6 % (5/9)                | 21,20 % - 86,30 %      |
|     | 15 – 34 (global)      | 84,0 % (21/25)              | 63,92 % - 95,46 %      |
| NPA | >40                   | 98,0 % (49/50) <sup>3</sup> | 89,35 % - 99,95 %      |

<sup>1</sup> Calculé par la méthode exacte de Clopper-Pearson. <sup>2</sup> Ct dans cette plage sont représentatifs pour des concentrations de virus Ebola autour et en dessous du seuil de détection du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. <sup>3</sup> Cet échantillon faux positif a à nouveau testé positif lors d'un nouveau test.

#### Test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® comparé au comparateur

|                    |   | Résultats du comparateur (RT-PCR) |   |       |   |       |   |       |   |             |   | Résultats du comparateur (RT-PCR) |    |
|--------------------|---|-----------------------------------|---|-------|---|-------|---|-------|---|-------------|---|-----------------------------------|----|
|                    |   | 15- 20                            |   | 21-24 |   | 25-29 |   | 30-34 |   | Globalement |   | Ebola non détecté                 |    |
|                    |   | +                                 | - | +     | - | +     | - | +     | - | +           | - | +                                 | -  |
| Résultats Ebola OQ | + | 7                                 |   | 9     |   | 3     |   | 2     |   | 21          |   | 1                                 |    |
|                    | - |                                   | 0 |       | 0 | 2     | 0 | 2     | 0 | 4           | 0 | 0                                 | 49 |

Aucun échantillon n'a été testé avec une valeur Ct de 24 ou 29.

#### ii. Échantillons sanguins positifs à Ebola préparés

Vingt-cinq (25) échantillons de sang total veineux de personnes fébriles (> 38 °C) ont été prélevés et dopés avec le virus Ebola-Zaire irradié aux rayons gamma, Mayinga (BEI, NR-31807) pour créer des échantillons positifs préparés. Douze (12) échantillons ont été dopés à 1,5 x seuil de détection (LoD) et treize (13) à 5 x LoD. Le pourcentage de concordance d'échantillons positifs (PPA) pour les échantillons de sang total veineux était de 100 % (IC à 95 % de 86,28 % - 100 %). Les résultats sont résumés au tableau ci-dessous.

| Type d'échantillon                                                                                                                                           | Pourcentage de concordance d'échantillons positifs (n/N) | IC à 95 %*         |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------------|
| Sang total veineux                                                                                                                                           | 100 % (25/25)                                            | 86,28 % - 100,00 % |
| n = nombre d'échantillons concordants, N = taille de l'échantillon<br>*Intervalle de confiance (IC) calculé à l'aide de la méthode Clopper-Pearson (exacte). |                                                          |                    |

#### iii. Performance dans une population non endémique

Pour étayer la thèse du test sur sang total (ponction digitale), une étude de spécificité a été réalisée auprès de 26 sujets aux États-Unis. Les données d'une personne ont été exclues pour cause de valeurs hors fenêtre. Dans un autre étude, 493 personnes au total ont été admises à travers 4 centres aux États-Unis. Sur ces 493 échantillons, 38 ont permis de constituer des échantillons positifs aux fins d'aveugle, 1 personne a retiré son consentement et 4 échantillons ont été exclus de l'analyse en raison d'écarts. Les 450 restants ont été inclus dans l'analyse : 226 étaient des échantillons de sang total veineux et 224 des échantillons de sang prélevé par ponction digitale. Un sous-ensemble des personnes admises était fébrile (> 37,7 °C). Un résumé de tous les résultats est présenté dans le tableau ci-dessous.

| Type d'échantillon                                                                     | Pourcentage de concordance d'échantillons négatifs (n/N) | IC à 95 % *        |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|--------------------|
| Sang total veineux - fébrile                                                           | 100 % (21/21)                                            | 83,89 % - 100,00 % |
| Sang total veineux - non fébrile                                                       | 100 % (205/205)                                          | 98,22 % - 100,00 % |
| Sang total par ponction digitale - fébrile                                             | 100 % (21/21)                                            | 83,89 % - 100,00 % |
| Sang total par ponction digitale - non fébrile                                         | 99,6 % (227/228)                                         | 97,59 % - 99,99 %  |
| n = nombre d'échantillons concordants, N = taille de l'échantillon                     |                                                          |                    |
| *Intervalle de confiance (IC) calculé à l'aide de la méthode Clopper-Pearson (exacte). |                                                          |                    |

#### iv. Performance avec du sang total prélevé par ponction digitale

La performance du dispositif avec du sang total prélevé par ponction digitale et positif au virus Ebola a été établie sur un modèle primate non humain (NHP). L'étude NHP avait pour objet d'évaluer (1) la concordance des résultats du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola entre du sang total veineux (Veineux) et du sang capillaire (Ponction digitale) et (2) la concordance des résultats du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola avec un dosage RT-PCR de référence sous EUA.

Le tableau ci-dessous résume les résultats avec le sang total veineux et le sang total par ponction veineuse de l'animal testés sur le dispositif OraQuick, de même que les résultats RT-PCR. La NPA du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick Ebola a été calculée en utilisant les échantillons de début d'étude de l'animal, avant l'ajout du virus. La NPA était de 100 % (10 échantillons/10) pour le sang total veineux et prélevé par ponction veineuse.

|                   | PPA<br>(comparée à l'état infectieux) |             | PPA<br>(comparée à la PCR) |             |
|-------------------|---------------------------------------|-------------|----------------------------|-------------|
|                   | Ponction digitale                     | Veineux     | Ponction digitale          | Veineux     |
| <b>Jour 3</b>     | 20 % (1/5)                            | 0 % (0/5)   | Sans objet                 | Sans objet  |
| <b>Jour 5</b>     | 100 % (5/5)                           | 60 % (3/5)  | 100 % (5/5)                | 60 % (3/5)  |
| <b>Jour 7 à 8</b> | 100 % (4/4)                           | 100 % (5/5) | 100 % (4/4)                | 100 % (5/5) |

Les résultats ne doivent pas être interprétés comme si la détection précoce était plus sensible pour la FSWB que pour la VWB.

#### v. Performance avec le panel de référence international de l'OMS pour l'antigène Vp40 du virus Ebola

Le matériel de référence VP40 recombinant de l'OMS a été évalué pour déterminer la sensibilité en fonction de la dilution du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola avec un matériel normalisé indépendant. Ce matériel (1er réactif de référence 2016, antigène VP40 Ebola lyophilisé ; réf. 2016.2302, échantillon 3) a été obtenu auprès du National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). L'échantillon 3 a été reconstitué en suivant les instructions du fabricant, mis en pools et dilué en série dans du sang total. Cinq jeux de dilutions ont été préparés à l'aide du même échantillon de sang total. Les dilutions et les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

|                  |             | Rép. 1 | Rép. 2 | Rép. 3 | Rép. 4 | Rép. 5 |
|------------------|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| <b>Non dilué</b> | <b>0</b>    | R      | R      | R      | R      | R      |
| <b>Dilution</b>  | <b>1:3</b>  | NR     | NR     | R      | R      | R      |
|                  | <b>1:6</b>  | NR     | NR     | NR     | NR     | NR     |
|                  | <b>1:9</b>  | NR     | NR     | NR     | NR     | NR     |
|                  | <b>1:12</b> | NR     | NR     | NR     | NR     | NR     |
|                  | <b>1:24</b> | NR     | NR     | NR     | NR     | NR     |
|                  | <b>1:48</b> | NR     | NR     | NR     | NR     | NR     |

R: réactif. NR : non réactif. Les résultats R et NR équivalent respectivement à des résultats positifs et négatifs.

#### SENSIBILITÉ ANALYTIQUE AVEC DU SANG TOTAL SEUIL DE DÉTECTION AVEC DU SANG TOTAL

Une étude de détermination d'une plage de seuils de détection (LoD) dans le sang total veineux a identifié 1,64x10<sup>6</sup> TCID50/ml comme le LoD provisoire pour le virus Ebola-Zaire désactivé (souche de virus : Ebola-Zaire Mayinga ZZXDK901 / 812094 / VSP / 2,5x10<sup>6</sup> TCID50/ml). Ce LoD provisoire a été confirmé par 19 réplicats sur 20 testant positifs avec la même virus Ebola désactivé à cette concentration.

Par ailleurs, une étude de détermination d'une plage de LoD a été réalisée en dopant un pool de sang total veineux d'antigène VP40 recombinant. Cette étude de détermination d'une plage de LoD a conclu à un LoD provisoire pour le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola dans le sang total veineux avec antigène recombinant de 53 000 pg/ml ou 1,06 ng/test. Ce LoD provisoire a été confirmé par 20 réplicats sur 20 testant positifs avec le même antigène VP40 recombinant à cette concentration.

## **RÉACTIVITÉ ANALYTIQUE (INCLUSIVITÉ) DANS LE SANG TOTAL**

La réactivité analytique du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola a été évaluée pour d'autres souches du virus Ebola. Le test de trois (3) réplicats a été effectué à l'aide de sang total veineux négatif comme matrice d'échantillons de test. Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola réagit également avec Ebola-Soudan et Ebola-Bundibugyo, outre sa réaction avec Ebola-Zaïre.

| Souche Ebola                                             | Inactivé ou actif | Concentration testée                                                                                                             | Réactivité (Positif (P)/Négatif (N)) |
|----------------------------------------------------------|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
| Ebola-Zaire Mayinga<br>ZZXDK901/812094/VSP               | Inactivé          | 1,5x10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml                                                                                       | P <sup>B</sup>                       |
| Côte d'Ivoire<br>(CÔTE D'IVOIRE 11/27/94)                | Inactivé          | Inconnue (dilution 1:10)<br>Inconnue (dilution 1:1)                                                                              | N<br>N                               |
| Reston<br>(119876 Pennsylvanie)                          | Inactivé          | 3,16 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml<br>3,16 x 10 <sup>7</sup> UFP/ml                                                                   | N<br>N                               |
| Soudan<br>(BONEFACE)                                     | Inactivé          | 10 <sup>6</sup> UFP/ml<br>5 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml                                                                             | N<br>P <sup>A</sup>                  |
| Soudan <sup>E</sup><br>(200011676 GULU)                  | Inactivé          | 5,6 x 10 <sup>4</sup> UFP/ml<br>2,8 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml                                                                     | P <sup>A</sup><br>P                  |
| Bundibugyo <sup>F</sup><br>(prototype OUGANDA 200706291) | Inactivé          | 3,98 x 10 <sup>4</sup> UFP/ml<br>1,99 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml                                                                   | P<br>P                               |
| Soudan Gulu <sup>E</sup><br>(2000011676)                 | Inactivé          | 3,25 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml<br>5,95 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml<br>1,19 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml<br>1,79 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml | N<br>N<br>P<br>P <sup>C</sup>        |
| Bundibugyo <sup>F</sup><br>(Ouganda)                     | Inactivé          | 3,73 x 10 <sup>4</sup> UFP/ml<br>6,83 x 10 <sup>4</sup> UFP/ml<br>1,37 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml<br>2,05 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml | N<br>N <sup>D</sup><br>P<br>P        |
| Forêt de Taï<br>(aussi appelé Côte d'Ivoire)             | Inactivé          | 1,36 x 10 <sup>7</sup> VP/ml<br>7,5 x 10 <sup>7</sup> VP/ml                                                                      | N<br>N                               |
| Reston (aussi appelé H28)                                | Inactivé          | 5,83 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml                                                                                                    | N                                    |

<sup>A</sup> Deux réplicats sur trois ont donné un résultat positif et les critères d'acceptation ont été satisfaits.  
<sup>B</sup> Tests réalisés dans le cadre de l'étude LoD.  
<sup>C</sup> Un 4e réplicat a été ajouté pour confirmer les résultats non réactifs initiaux pour un réplicat – 3 réplicats sur 4 réactifs.  
<sup>D</sup> Un des trois réplicats était réactif et les critères d'acceptation n'ont pas été satisfaits.  
<sup>E,F</sup> Les deux échantillons testés issus de la même souche proviennent d'une source différente. Des méthodes de préparation différentes peuvent aboutir à des nombres d'unités formant plaque différents, même si l'échantillon de départ est le même.

## **EFFET CROCHET À FORTE DOSE**

Un effet crochet à forte dose est un résultat faux négatif étant donné la très forte concentration d'analyte cible. L'antigène à des concentrations excessives risque de saturer les anticorps spécifiques dans le dosage diminuant les complexes entre l'anticorps sur le conjugué or et l'anticorps biotinylé. La liaison insuffisante du conjugué or peut se produire à la ligne de test et le résultat être interprété comme un résultat faussement négatif. Une étude analytique a été réalisée et les résultats démontrent une performance acceptable du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola lors de l'évaluation d'échantillons à des concentrations d'antigène excessives. Il n'y a pas de baisse d'intensité visuelle à la ligne de test pour une concentration d'antigène VP40 de 10 000 fois maximum le LoD établi.

## **SPECIFICITÉ ANALYTIQUE AVEC DU SANG TOTAL** **SUBSTANCES INTERFÉRENTES AVEC DU SANG TOTAL**

Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola a été évalué avec les substances interférentes suivantes présentes dans du sang total négatif et du sang total dopé d'antigène recombinant (rAg) à 2 fois le LoD pour évaluer leur effet potentiel sur la performance du dosage conformément aux directives CLSI EP7-A23. Les tests Bilirubine, Hémoglobine, Protéine et HAMA ont été réalisés sur les trois (3) échantillons de sang total testés à n=2 réplicats pour chaque condition. Le test Facteur rhumatoïde a été réalisé sur trois échantillons de sérum qui ont été testés chacun dans deux dilutions avec n=2 réplicats. Les concentrations de facteur rhumatoïde qui ont été testées oscillaient entre 525 à 11 900 UI/ml. Les substances restantes ont été testées sur quatre (4) échantillons de sang total à n=3 réplicats. Les substances interférentes qui ont produit des faux négatifs occasionnels dans les échantillons faiblement positifs dopés avec rAg (2 x LoD) ont été à nouveau testées en présence d'une concentration en rAg légèrement supérieure (4 x LoD) pour permettre de faire la distinction entre la distribution statistique aléatoire des mesures sur un échantillon faiblement positif et une véritable interférence de la substance testée.

| Substance interférente                      | Concentration de test cible | n  | Échantillons négatifs |            | Échantillons positifs dopés avec rAG |            |
|---------------------------------------------|-----------------------------|----|-----------------------|------------|--------------------------------------|------------|
|                                             |                             |    | Positif               | Négatif    | Positif                              | Négatif    |
| Bilirubine                                  | 25 mg/dl                    | 6  | 0                     | 6 (100 %)  | 6 (100 %)                            | 0          |
| Hémoglobine                                 | 20 g/dl                     | 6  | 0                     | 6 (100 %)  | 6 (100 %)                            | 0          |
| Protéine                                    | 5 g/dl                      | 6  | 0                     | 6 (100 %)  | 6 (100 %)                            | 0          |
| HAMA                                        | 2464 ng/ml                  | 6  | 0                     | 6 (100 %)  | 6 (100 %)                            | 0          |
| Facteur rhumatoïde (sérum)                  | 1050 UI/ml                  | 2  | 0                     | 2 (100 %)  | 2 (100 %)                            | 0          |
|                                             | 2920 UI/ml                  | 2  | 2 (100 %)             | 0          | 2 (100 %)                            | 0          |
| Facteur rhumatoïde (sérum dans sang total)  | 525 UI/ml                   | 4  | 0                     | 4 (100 %)  | 3 (75 %)                             | 1 (25 %)   |
|                                             | 1460 UI/ml                  | 4  | 4 (100 %)             | 0          | 4 (100 %)                            | 0          |
| Facteur rhumatoïde (plasma)                 | 11,900 UI/ml                | 6  | 6 (100 %)             | 0          | 6 (100 %)                            | 0          |
| Facteur rhumatoïde (plasma dans sang total) | 2000 UI/ml                  | 6  | 5 (83 %)              | 1 (17 %)   | 6 (100 %)                            | 0          |
| Cholestérol                                 | 13 mmol/l                   | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Anticorps antinucléaires                    | 1:160 Titrage               | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 11 (91,7 %)                          | 1 (8,3 %)  |
|                                             | 1:120 Titrage               | 3  |                       |            | 3 (100 %)                            | 0          |
|                                             | 1:160 Titrage at 4.0 x LoD  | 12 |                       |            | 12 (100 %)                           | 0          |
| Acide acétylsalicylique                     | 3,62 mmol/l                 | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Acide salicylique                           | 4,34 mmol/l                 | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Sulfaméthoxazole                            | 1,58 mmol/l                 | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Ribavirine                                  | 11,04 µg/ml                 | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 11 (91,7 %)                          | 1 (8,3 %)  |
|                                             | 5,52 µg/ml                  | 3  |                       |            | 3 (100 %)                            | 0          |
|                                             | 11,04 µg/ml à 4 x LoD       | 12 |                       |            | 12 (100 %)                           | 0          |
| Emtricitabine                               | 7,5 µg/ml                   | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 11 (91,7 %)                          | 1 (8,3 %)  |
|                                             | 3,75 µg/ml                  | 3  |                       |            | 3 (100 %)                            | 0          |
|                                             | 7,5 µg/ml at 4.0 x LoD      | 12 |                       |            | 12 (100 %)                           | 0          |
| Efavirenz                                   | 16,6 µg/ml                  | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Ritonavir                                   | 33,6 µg/ml                  | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 10 (83,3 %)                          | 2 (16,7 %) |
|                                             | 16,8 µg/ml                  | 6  |                       |            | 6 (100 %)                            | 0          |
|                                             | 33,6 µg/ml à 4 x LoD        | 12 |                       |            | 12 (100 %)                           | 0          |
| Elvitégravir                                | 5,61 µg/ml                  | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Chloroquine                                 | 17,95 µg/ml                 | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Atovaquone / proguanil                      | 89,1/2,8 µg/ml              | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Ibuprofène                                  | 2425 µmol/l                 | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Acétaminophène                              | 1324 µmol/l                 | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Quinine                                     | 148 µmol/l                  | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 11 (91,7 %)                          | 1 (8,3 %)  |
|                                             | 74 µmol/l ou 24 µg/ml       | 3  |                       |            | 3 (100 %)                            | 0          |
|                                             | 148 µmol/l à 4 x LoD        | 11 |                       |            | 11 (100 %)                           | 0          |
| Rifampine                                   | 78.1 µmol/l                 | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Amoxicilline                                | 206 µmol/l                  | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Tétracycline                                | 34 µmol/l                   | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Érythromycine                               | 81,6 µmol/l                 | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |
| Biotine                                     | 3,6 µg/ml                   | 12 | 0                     | 12 (100 %) | 12 (100 %)                           | 0          |

Le test Facteur rhumatoïde a causé des résultats faux positifs au test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola à toutes les concentrations testées supérieures à 1 050 UI/ml. Les concentrations de facteur rhumatoïde inférieures ou égales à 1 050 UI/ml ne causent pas d'interférences avec le dosage.

## RÉACTIVITÉ CROISÉE DANS LE SANG TOTAL

La réactivité croisée du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola a été évaluée en testant des pathogènes viraux, bactériens et parasites supplémentaires. Dans le cadre de cette étude, trois (3) réplicats ont été testés en dopant le sang total veineux avec les pathogènes aux concentrations indiquées ci-dessous. Aucun des organismes testés n'a produit de résultats faux positifs pour le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola à la concentration testée.

| Virus/bactérie/parasite                | Inactivé ou vivant | Type/souche                                                                                                    | Concentration testée                                                                                                                                               | Réactivité                                     |
|----------------------------------------|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Marburg                                | Inactivé           | RAVN<br>Musoke<br>Lac Victoria (aussi appelé<br>Musoke)<br>2005011379 Angola<br>VOEGE                          | Log 5,53 TCID <sub>50</sub> /ml<br>3,16 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml<br>3,73 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml<br>1,44 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml<br>3,6 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml | Aucune<br>Aucune<br>Aucune<br>Aucune<br>Aucune |
| Fièvre hémorragique de<br>Crémée-Congo | Inactivé           | OMAN199809166 #811466                                                                                          | 5,6 x10 <sup>4</sup> TCID <sub>50</sub> /ml                                                                                                                        | Aucune                                         |
| Lassa                                  | Inactivé           | Josiah<br>Josiah<br>Macenta (aussi appelé Z-136)<br>Pinneo                                                     | 3,16 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml<br>1,88 x 10 <sup>5</sup> UFP/ml<br>1,19 x 10 <sup>7</sup> UFP/ml<br>2 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml                                      | Aucune<br>Aucune<br>Aucune<br>Aucune           |
| Fièvre de la vallée du Rift            | Inactivé           | ZH-501<br>ZH-501                                                                                               | 3 x10 <sup>6</sup> UFP/ml<br>5,43 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml                                                                                                         | Aucune<br>Aucune                               |
| Fièvre jaune                           | Inactivé           | Souche de vaccin #806588<br>Asibi                                                                              | Inconnue<br>1,88 x 10 <sup>6</sup> UFP/ml                                                                                                                          | Aucune<br>Aucune                               |
| Virus chikungunya                      | Vivant             | ATCC VR-64                                                                                                     | 3,0 x 10 <sup>8</sup> DL <sub>50</sub> /ml                                                                                                                         | Aucune                                         |
| Grippe A                               | Vivant             | A/Wisconsin/10/1998                                                                                            | 2,3 x 10 <sup>3</sup> TCID <sub>50</sub> /ml                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Grippe B                               | Vivant             | B/Florida/04/06                                                                                                | 4,6 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Rotavirus                              | Vivant             | ATCC VR-899                                                                                                    | 6,4 x 10 <sup>8</sup> TCID <sub>50</sub> /ml                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Adénovirus                             | Vivant             | Type 4 ATCC VR-1572                                                                                            | 2,0 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml                                                                                                                       | Aucune                                         |
| RSV                                    | Vivant             | ATCC VR-26                                                                                                     | 9,0 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Entérovirus                            | Vivant             | Entérovirus 71 ATCC VR-1432                                                                                    | 5,1 x 10 <sup>7</sup> TCID <sub>50</sub> /ml                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Salmonella                             | Vivant             | S. enterica ATCC 10708                                                                                         | 3,8 x 10 <sup>7</sup> CFU/ml                                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Salmonella typhi                       | Vivant             | S. typhi ATCC 6539                                                                                             | 5,4 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Shigella                               | Vivant             | S. dysenteriae ATCC 9361                                                                                       | 4,0 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Pseudomonas aeruginosa                 | Vivant             | P. aeruginosa ATCC 15442                                                                                       | 3,4 x 10 <sup>8</sup> CFU/ml                                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Vibrio cholera                         | Vivant             | V. cholera ATCC 39050                                                                                          | 6,7 x 10 <sup>5</sup> CFU/ml                                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Streptococcus pneumonia                | Vivant             | S. pneumonia ATCC 6303                                                                                         | 2,1 x 10 <sup>8</sup> CFU/ml                                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Hemophilus influenza<br>(méningite)    | Vivant             | H. influenzae ATCC 33930                                                                                       | 3,0 x 10 <sup>7</sup> CFU/ml                                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Leptospira genus                       | Vivant             | L. biflexa ATCC 23582                                                                                          | ~ 9,1 x 10 <sup>4</sup> CFU/ml                                                                                                                                     | Aucune                                         |
| Neisseria meningitidis                 | Vivant             | N. meningitidis ATCC 13090                                                                                     | 3,5 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Yersinia enterocolitica                | Vivant             | Y. enterocolitica ATCC 23715                                                                                   | 7,0 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                                                                                                                                       | Aucune                                         |
| Plasmodium falciparum                  | Vivant             | falciparum ATCC 30932                                                                                          | 0,26% parasitémie                                                                                                                                                  | Aucune                                         |
| Plasmodium vivax                       | Vivant             | P. vivax ATCC 30151                                                                                            | Inconnu                                                                                                                                                            | Aucune                                         |
| Trypanosoma                            | Vivant             | T. cruzi ATCC 30013                                                                                            | 6,8 x 10 <sup>5</sup> cellules/ml                                                                                                                                  | Aucune                                         |
| Rickettsia                             | Protéine seulement | R. africae (protéine)<br>BEI NR-42992                                                                          | 11,6 mg/ml                                                                                                                                                         | Aucune                                         |
| Dengue                                 | Inactivé           | Sérotype 1, souche WP74<br>Sérotype 2, souche 16803<br>Sérotype 3, souche Ch53489<br>Sérotype 4, souche 341750 | 6,20 x 10 <sup>4</sup> UFP/ml<br>7,18 x 10 <sup>5</sup> UFP/ml<br>1,52 x 10 <sup>4</sup> UFP/ml<br>2,12 x 10 <sup>5</sup> UFP/ml                                   | Aucune<br>Aucune<br>Aucune<br>Aucune           |

| Virus/bactérie/parasite                     | Inactif ou vivant | Type/souche                                                       | Concentration testée                         | Réactivité |
|---------------------------------------------|-------------------|-------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------|
| Bacteroides fragilis                        | Vivant            | VPI 2553 [EN-2 ; NCTC 9343]<br>ATCC 25285                         | 1,0 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | Aucune     |
| Klebsiella pneumoniae                       | Vivant            | [CIP 104216, NCIB 10341]<br>ATCC 4352                             | 5,8 x 10 <sup>7</sup> CFU/ml                 | Aucune     |
| Enterococcus faecium                        | Vivant            | NCTC 7171 [DSM 20477, JCM 8727, NCTC 942] ATCC 19434              | 7,6 x 10 <sup>7</sup> CFU/ml                 | Aucune     |
| Escherichia coli                            | Vivant            | AMC 198 ATCC 11229                                                | 4,5 x 10 <sup>7</sup> CFU/ml                 | Aucune     |
| Virus de la stomatite vésiculaire           | Vivant            | Rhabdovirus Indiana Lab<br>[V-520-001-522] ATCC VR-158            | 7,9 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | Aucune     |
| Virus de l'immunodéficience humaine (VIH-1) | Vivant            | Échantillon clinique<br>ZeptoMetrix 022117B1D                     | 5,1 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | Aucune     |
| Virus de l'hépatite A                       | Vivant            | Échantillon clinique<br>Université d'Ottawa 021916B1C-1D          | 4,5 x 10 <sup>7</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | Aucune     |
| Cytomégalo virus                            | Vivant            | Herpesviridae AD-169<br>ATCC VR-1788                              | 2,9 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | Aucune     |
| Virus Epstein-Barr                          | Vivant            | Herpesviridae, Lymphocryptovirus<br>P-3 ATCC VR-602               | 1,44 10 <sup>6</sup> copies/ml*              | Aucune     |
| Virus de l'hépatite B                       | Vivant            | Échantillon clinique DLS13-01459                                  | 1,2 x 10 <sup>7</sup> IU/ml                  | Aucune     |
| Virus du Nil occidental                     | Vivant            | Flaviviridae, flavivirus<br>B 956 [V-554-001-522]<br>ATCC VR-1267 | 2,3 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | Aucune     |
| Virus de l'hépatite C                       | Vivant            | Échantillon clinique DLS14-08008                                  | 4,7 x 10 <sup>6</sup> IU/ml                  | Aucune     |
| Virus des oreillons                         | Vivant            | Paramyxoviridae,<br>Rubulavirus Jones<br>ATCC VR-1438             | 7,1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | Aucune     |
| Rougeole                                    | Vivant            | Paramyxoviridae, morbillivirus<br>edmonston ATCC VR-24            | 1,5 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | Aucune     |
| Rubéole                                     | Vivant            | Togaviridae, rubivirus M33<br>ATCC VR-315                         | 1,5 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | Aucune     |
| Streptococcus pneumoniae                    | Vivant            | Slovaquie 14-10 [29055]<br>ATCC 700677                            | 4,6 x 10 <sup>4</sup> CFU/ml                 | Aucune     |
| Borrelia hermsii                            | Vivant            | HS1 Sérotype 26 ATCC<br>BAA-2821                                  | Dilution 1:11                                | Aucune     |
| Yersinia pseudotuberculosis                 | Vivant            | IP2666 BEI NR-4371                                                | Dilution 1:11                                | Aucune     |
| Rickettsia australis                        | Vivant            | JC BEI NR-10454                                                   | 8,1 x 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | Aucune     |

\*Concentration déterminée dans le plasma.

## REPRODUCTIBILITÉ AVEC DU SANG TOTAL

La reproductibilité du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola a été testée dans 3 centres en utilisant 3 lots de dispositifs de test deux fois par jour pendant 5 jours avec 9 opérateurs (3 par centre). Trois types de membre du panel de sang total (négatif, faiblement positif - 2x le seuil de détection (LoD) et modérément positif - 5x LoD) ont été testés. Les membres du panel ont été masqués pour chaque opérateur, série et dispositif pour garantir le caractère imprévisible des résultats des types de membre du panel. Globalement, la concordance entre les opérateurs, centres et lots de dispositifs fut de 99,6 % (IC à 95 % : 99,5 à 99 %) pour l'échantillon négatif, de 99,9 % (IC à 95 % : 99,3 à 100 %) pour l'échantillon faiblement positif et de 100 % (IC à 95 % : 99,5 à 100 %) pour l'échantillon modérément positif.

## PERFORMANCE CLINIQUE DU TEST POUR FLUIDE ORAL CADAVÉRIQUE

### i. Étude de l'OMS

Un total de 277 échantillons cadavériques rétrospectifs (recueillis en 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 par PCR. Avant le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola, tous les échantillons ont été à nouveau testés par PCR EUA pour confirmer le résultat PCR Ebola initial.

Un total de 222 échantillons négatifs avec le test RT-PCR initial ont été à nouveau testés par PCR EUA. Sur ces 222 échantillons, 29 ont donné 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 positifs avec le test RT-PCR initial et à nouveau testés avec la PCR EUA, 51 échantillons se sont avérés 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.

La performance du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola, comparée à la PCR EUA, est présentée au tableau suivant :

|                                                               | PCR comparative                                      |                                                      |
|---------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
|                                                               | Pourcentage de concordance positif (PPA) (IC à 95 %) | Pourcentage de concordance négatif (NPA) (IC à 95 %) |
| <b>Test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola</b> | 34/35<br>97,1 %<br>(85,5 à 99,5)                     | 193/193<br>100 %<br>(98,1 à 100)                     |

**Remarque :** l'étude incluait aussi le test de 16 échantillons dilués 1:4 dans de l'eau distillée. Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola 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. Ces échantillons dilués ne sont pas inclus dans le calcul de la performance.

### ii. 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, 50 échantillons ont été testés avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola conformément à la notice pour fluide oral cadavérique en utilisant la méthode de prélèvement direct. Les 50 échantillons testés par le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® étaient tous négatifs par PCR. Un échantillon a initialement produit un résultat non valide et a à nouveau été testé conformément à la notice ; l'échantillon à nouveau testé était négatif. Le tableau suivant inclut un résumé des données d'étude de terrain :

| Date de test    | Région | Testé par RDT | Positif | Negative        | Non valide | PCR             |
|-----------------|--------|---------------|---------|-----------------|------------|-----------------|
| 10 janvier 2016 | Kenema | 50            | 0       | 50 <sup>A</sup> | 0          | 50 <sup>B</sup> |

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 négatif. Des échantillons PCR ont été prélevés sur écouvillon et se sont avérés négatifs par PCR.

B) Lors de flambée épidémique en Afrique de l'Ouest, la PCR a été utilisée en conjonction avec le test OraQuick® pour tous les cadavres. Les 50 échantillons testés par les tests de dépistage rapide des antigènes OraQuick® étaient tous négatifs par PCR.

Cette étude a donné un pourcentage de concordance négatif pour le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola de 50/50 = 100 % avec un intervalle de confiance à 95 % compris entre 93 et 100 %.

### iii. Étude du CDC – Guinée

En Guinée, 334 échantillons (écouvillons oraux) ont été prélevés sur des cadavres et testés en parallèle avec la PCR et le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. Les échantillons ont été prélevés entre juin et août 2015. Tous les échantillons étaient négatifs par PCR et également négatifs avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola.

### iv. Étude du CDC – Libéria

Par ailleurs, 97 échantillons de cadavres au Libéria ont été testés avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. Les échantillons ont été testés en parallèle avec la PCR EUA du CDC ou du DOD. Les échantillons ont été testés entre mai et juin 2015 et testés avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola 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 le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. Les échantillons n'ont pas été retestés avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® 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 le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. Cette étude a donné un pourcentage de concordance négatif pour le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola de 94/94 = 100 % avec un intervalle de confiance à 95 % compris entre 96,1 et 100 %.

### v. Étude OraSure Technologies Inc. – Échantillons de fluide oral préparés positifs au virus Ebola

La performance du dispositif a été évaluée avec vingt (20) échantillons de salive positifs au virus Ebola préparés à la place de fluide oral directement prélevé, en dopant l'échantillon sur la spatule du dispositif. Les échantillons positifs ont été préparés avec le virus Ebola-Zaïre irradié aux rayons gamma, Mayinga, NR-31807 de BEI Resources. Des échantillons négatifs au virus Ebola ont été inclus aux lectures de test en aveugle pour contrôler le biais. Le pourcentage de concordance positif était de 95 %. Un échantillon positif préparé à 1,5 x LoD a été enregistré comme un résultat négatif. Les échantillons négatifs ont donné les résultats escomptés, soit une concordance égale à 100 %. Cette étude a donné un pourcentage de concordance positif (PPA) de 19/20 = 95 % avec un intervalle de confiance à 95 % compris entre 75,13 et 99,87 %.

## vi. Étude OraSure Technologies Inc. - Échantillons de fluide oral cadavérique en milieu de transport viral (VTM)

La performance de spécificité du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola dans des échantillons de fluide oral cadavérique collectés dans du VTM Becton Dickinson (BD) (Becton Dickinson Universal Viral Transport for Viruses, Chlamydiae, Mycoplasmas and Ureaplasmas) et du VTM  $\Sigma$ -Virocult® ( $\Sigma$ -Virocult Swab and Virus Transport Medium for the Collection of Virus Specimens) a été évaluée avec 63 échantillons de fluide oral cadavérique négatifs en aveugle avec des échantillons de fluide oral positifs préparés. Les résultats du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola étaient négatifs pour tous les échantillons de fluide oral cadavérique testés à la fois dans le VTM BD et le VTM  $\Sigma$ -Virocult. Tous les échantillons préparés ont été correctement identifiés comme étant positifs par les opérateurs. Le pourcentage de concordance négatif (NPA) pour le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola était de 63/63 = 100 % avec un intervalle de confiance à 95 % entre 94,3 et 100 % à la fois dans le VTM BD et le VTM  $\Sigma$ -Virocult.

## SEUIL DE DÉTECTION AVEC DU FLUIDE ORAL CADAVÉRIQUE – DONNEURS VIVANTS

Une étude de détermination d'un intervalle de seuil de détection a été réalisée avec du fluide oral recueilli auprès de donneurs vivants avec le système de transport universel BD (3 ml de milieu), le système de transport  $\Sigma$ -Virocult (1 ml de milieu) et directement prélevé avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. Pour un prélèvement direct avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick®, l'antigène VP40 recombinant a été directement ajouté sur la spatule de prélèvement du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola 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  $\mu$ l ont ensuite été placés dans l'orifice à échantillon du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola avant immersion du dispositif dans le flacon de solution révélatrice.

Le seuil de détection provisoire pour du fluide oral directement prélevé auprès de donneurs vivants avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola 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 auprès de donneurs vivants 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 auprès de donneurs vivants avec le système de transport  $\Sigma$ -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<br>[quantité de rAG par test] | Seuil de détection<br>[Concentration de rAG dans<br>le fluide] |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| Prélèvement direct OraQuick®                       | 0,53 ng/test <sup>A</sup>                             | 7,6 ng/ml                                                      |
| Système de transport viral universel BD pour virus | 0,217 ng/test                                         | 465 ng/ml                                                      |
| Système de transport $\Sigma$ -Virocult®           | 3,20 ng/test                                          | 3 200 ng/ml                                                    |

<sup>A</sup> L'antigène recombinant, le virus vivant et le virus inactivé ont été testés en parallèle avec le test de dépistage rapide des antigènes OraSure® Ebola pour sang total. Avec du sang total, le seuil de détection de 0,53 ng/test correspondait à un seuil de détection de  $1,64 \times 10^6$  TCID<sub>50</sub>/ml

<sup>B</sup> 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  $\mu$ l pour la spatule du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola, 70  $\mu$ l pour l'écouvillon BD dilué dans 3 ml de milieu de transport viral et 50  $\mu$ l pour l'écouvillon  $\Sigma$ -Virocult® dilué dans 50 ml de milieu de transport viral) et le volume consécutif de 20  $\mu$ l de milieu de transport viral qui a été transféré au dispositif.

Des tests supplémentaires ont établi que le seuil de détection analytique dans du fluide oral cadavérique et du fluide oral prélevé sur un donneur vivant sont équivalents.



## RÉACTIVITÉ CROISÉE AVEC DU FLUIDE ORAL CADAVÉRIQUE

La réactivité croisée du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola a été évaluée en testant des pathogènes viraux et bactériens supplémentaires. Dans cette étude, trois (3) réplicats ont été testés en dopant avec des pathogènes du fluide oral négatif au virus Ebola (salive utilisée à la place) aux concentrations indiquées ci-dessous. Aucun des organismes testés n'a produit de résultats faux positifs pour le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola à la concentration testée.

| Virus/bactérie              | Inactivé ou vivant | Type/souche                                          | Concentration testée                         | Réactivité |
|-----------------------------|--------------------|------------------------------------------------------|----------------------------------------------|------------|
| Virus Herpes Simplex Type 1 | Vivant             | ATCC VR-260                                          | 2,7 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | Vivant     |
| Virus Herpes Simplex Type 2 | Vivant             | ATCC VR-734                                          | 1,0 x 10 <sup>6</sup> TCID <sub>50</sub> /ml | Vivant     |
| Actinomyces viscosus        | Vivant             | ATCC 43146                                           | 2,9 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Candida albicans            | Vivant             | ATCC 18804                                           | 6,1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Staphylococcus aureus       | Vivant             | ATCC 6538                                            | 3,6 x 10 <sup>7</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Staphylococcus epidermis    | Vivant             | ATCC 12228                                           | 3,9 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Streptococcus pyogenes      | Vivant             | ATCC 19615                                           | 1,4 x 10 <sup>7</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Streptococcus salivarius    | Vivant             | ATCC 7073                                            | 7,7 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Streptococcus mutans        | Vivant             | ATCC 25175                                           | 2,0 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Lactobacillus johnsonii     | Vivant             | ATCC 33200                                           | 1,9 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Porphyromonas gingivalis    | Vivant             | ATCC 49417                                           | 1,7 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Mycobacterium tuberculosis  | Vivant             | ATCC 25177                                           | 1,0 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Moraxella catarrhalis       | Vivant             | Ne 11 [CCUG 353, LMG 11192, NCTC 11020] ATCC 25238   | 2,7 x 10 <sup>7</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Corynebacterium diphtheriae | Vivant             | 5159 ATCC 13812                                      | 8,4 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Nocardia sp.                | Vivant             | N1408 [QN360] ATCC 700034                            | 5,4 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Bacteroides oralis          | Vivant             | VPI D27B-24 [NCTC 11459] ATCC 33269                  | 5,1 x 10 <sup>6</sup> CFU/ml                 | Vivant     |
| Chlamydomydia pneumoniae    | Vivant             | AR-39 ATCC 53592                                     | 2,6 x 10 <sup>6</sup> IFU/ml                 | Vivant     |
| Mycoplasma pneumonia        | Vivant             | Souche FH de l'agent d'Eaton [NCTC 10119] ATCC 15531 | 2,6 x 10 <sup>6</sup> IFU/ml                 | Vivant     |
| Bordetella pertussis        | Vivant             | Tohama I ATCC BAA-589                                | 6,9 x 10 <sup>6</sup> IFU/ml                 | Vivant     |

Un test de réactivité croisée additionnelle avec les organismes suivants a été effectué avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola sur du sang total et aucune réactivité croisée n'a été observée à la concentration testée : virus Marburg, fièvre hémorragique de Crimée-Congo, virus Lassa, fièvre de la vallée du Rift, fièvre jaune (souche vaccinale), virus chikungunya, grippe A, grippe B, rotavirus, adénovirus, RSV, entérovirus, Salmonella enterica, Salmonella typhi, Shigella dysenteriae, Pseudomonas aeruginosa, Vibrio cholera, Streptococcus pneumoniae, Hemophilus influenza (méningite) Leptospira, Neisseria meningitidis, Yersinia enterocolitica, Plasmodium falciparum (paludisme), Plasmodium vivax (paludisme), Trypanosoma cruzi, Rickettsia africae (protéine), Bacteroides fragilis, Klebsiella pneumoniae, Enterococcus faecium, E. Coli, virus de la stomatite vésiculaire, VIH-1, hépatite A, hépatite B, hépatite C, cytomégalovirus, virus Epstein-Barr, virus du Nil occidental, oreillons, rougeole, rubéole, Borrelia hermsii, Yersinia pseudotuberculosis, Rickettsia australis et dengue. Toutefois, le test réagit avec les virus Ebola Soudan et Ebola Bundibugyo.

## SUBSTANCES INTERFÉRENTES AVEC DU FLUIDE ORAL CADAVÉRIQUE

Le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola a été évalué avec les substances interférentes suivantes présentes dans du fluide total négatif et du fluide total dopé avec l'antigène recombinant (rAg) à 2 fois le LoD pour évaluer leur effet potentiel sur la performance du dosage conformément aux directives CLSI EP17-A24. Pour le dentifrice, la mucine et les leucocytes, des tests ont été effectués sur trois (3) échantillons de fluide oral, chacun à n=2 réplicat pour chaque condition.

La concentration pour le dentifrice n'a pas pu être quantifiée de manière analytique, mais la durée d'utilisation de la substance interférente était de (2) minutes, suivie d'un temps d'attente de trente (30) minutes avant le prélèvement direct avec le test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola. À la concentration testée pour la mucine (20 mg/ml), il y a eu un (1) faux positif dans le groupe de tests sur fluide oral négatif et un (1) faux négatif dans le groupe de tests sur fluide dopé avec du rAg. Aucune interférence n'a été notée à la concentration testée (15 mg/ml).

| Substances interférentes | Concentration de test cible | Réactivité |
|--------------------------|-----------------------------|------------|
| Dentifrice               | Sans objet                  | Aucune     |
| Mucine                   | 20 mg/ml                    | Réactif    |
|                          | 15 mg/ml                    | Aucune     |
| Leucocytes               | 6,12 x 10 cellules/l        | Aucune     |

## REPRODUCTIBILITÉ AVEC DU FLUIDE ORAL CADAVÉRIQUE

La reproductibilité du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola a été testée dans 3 centres en utilisant 3 lots de dispositifs de test deux fois par jour pendant 5 jours avec 9 opérateurs (3 par centre). Trois types de membre de panel fluide oral VTM (salive de donneur vivant utilisée à la place) (négatif, faiblement positif – 2 x seuil de détection (LoD) et modérément positif – 5 x LoD) ont été testés. Les membres du panel ont été masqués pour chaque opérateur, série et dispositif pour garantir le caractère imprévisible des résultats des types de membre du panel. Globalement, la concordance entre les opérateurs, centres et lots de dispositifs pour du fluide oral VTM fut de 99,9 % (IC à 95 % : 99,3 à 100 %) pour l'échantillon négatif, de 99,8 % (IC à 95 % : 99,1 à 100 %) pour l'échantillon faiblement positif et de 100 % (IC à 95 % : 99,5 à 100 %) pour l'échantillon modérément positif.

Trois types de membre de panel fluide oral par prélèvement direct (salive de donneur vivant utilisée à la place) (négatif, faiblement positif – 2 x seuil de détection (LoD) et modérément positif – 5 x LoD) ont été également testés. Les membres du panel ont été masqués pour chaque opérateur, série et dispositif pour garantir le caractère imprévisible des résultats des types de membre du panel. Globalement, la concordance entre les opérateurs, centres et lots de dispositifs pour du fluide oral par prélèvement direct fut de 98,1 % (IC à 95 % : 97 à 99 %) pour l'échantillon négatif, de 95,2 % (IC à 95 % : 93,5 à 96,5 %) pour l'échantillon faiblement positif et de 99,4 % (IC à 95 % : 98,6 à 99,8 %) pour l'échantillon modérément positif.

## 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
3. *EMERGENCY GUIDELINE Implementation and management of contact tracing for Ebola virus disease* ([http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/185258/1/WHO\\_EVD\\_Guidance\\_Contact\\_15.1\\_eng.pdf?ua=1](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/185258/1/WHO_EVD_Guidance_Contact_15.1_eng.pdf?ua=1)) issued by the World Health Organization (WHO) and the Centers for Disease Control (CDC).

### 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                                 |
|                                                                                                                               |  Ordonnance médicale                                |

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](http://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](http://www.OraSure.com)

Les réactifs critiques du test de dépistage rapide des antigènes OraQuick® Ebola sont fournis par :

- le Viral Hemorrhagic Fever Consortium ou « VHFC » ([www.VHFC.org](http://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/NIHAIID »). 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).