

## Guide de laboratoire

**Suspensions d'influenzas aviaires H5 ou H7 :**

**Analyses faites sur un TAAN multiplexe avec trousse  
FilmArray –Panel respiratoire Biofire (bioMérieux)**



### Introduction

Les influenzas aviaires sont des agents pathogènes du groupe de risque 3 (GR3) et aucune activité de propagation/amplifications (mise en culture du virus sur lignées cellulaires) ne peut être effectuée en dehors d'un laboratoire de niveau de confinement 3 (NC3).

Néanmoins, l'Agence de santé publique du Canada (ASPC) a rédigé des avis de biosécurité (1) qui présentent les évaluations plus complètes des risques associés à la manipulation de certains de ces virus de l'influenza et qui autorisent les activités de diagnostics cliniques sans propagation ou mise en culture :

- Virus de la grippe A H7N9 (17 mars 2014)
- Virus de la grippe aviaire hautement pathogène (10 mars 2004)
- Virus de la grippe A H5N1 produits en laboratoire et facilement transmissibles (1er février 2015)
- Virus de la grippe H1N1 (15 juin 2009)

### Exigences en matière de biosécurité pour analyses diagnostiques (sans la mise en culture)

L'ASPC autorise que « Les activités cliniques ou diagnostiques sans mise en culture peuvent être réalisées dans une installation de NC2 sous réserve de certaines exigences de biosécurité additionnelle »

1. Toutes les activités comportant la manipulation de récipients ouverts contenant des matières infectieuses doivent être menées dans une ESB certifiée ou un autre dispositif de confinement primaire (NCB E4.6.25 - NLDCB E4.6.244) (2-3);
2. Les employés susceptibles d'être exposés à des aérosols infectieux pouvant être transmis par voie respiratoire ou à des toxines aérosolisées doivent porter un appareil de protection respiratoire, tel que déterminé par une évaluation locale des risques (ELR; NCB E4.4.9 - NLDCB E4.4.8) (2-3);
3. Les employés doivent enfiler une deuxième couche de vêtements de protection avant de travailler avec des matières infectieuses ou des animaux infectés, conformément aux procédures relatives à l'entrée dans la zone de confinement (NCB E4.4.7 - NLDCB, E4.4.6) (2-3); Le port d'une couche additionnelle de vêtements de protection dédiés (p. ex. blouses sans ouverture sur le devant avec poignets bien ajustés, deuxième paire de gants, tabliers imperméables ou bonnets) procure une protection additionnelle et permet d'éviter une exposition si l'intégrité de la deuxième couche de protection est compromise par une déchirure ou si cette deuxième couche est contaminée après un déversement;
4. Les employés doivent retirer la couche dédiée ou additionnelle d'EPI lorsqu'ils sortent de la barrière de confinement (NCB E4.5.13 - NLDCB, E4.5.13) (2-3);

## Analyse de risques de biosécurité liés à l'utilisation de la trousse BioFire FilmArray Respiratory Panel (FA-RP)

### Mise en contexte :

La trousse BioFire FilmArray Respiratory Panel (FA-RP) BioFire (bioMérieux) est un test de détection d'acides nucléiques permettant l'identification multiplex de vingt pathogènes respiratoires viraux et bactériens (Tableau 1). Tous, mis à part certaines souches d'influenza aviaire de groupe A, sont classifiés par l'ASPC comme groupe de risque 2 (GR2) pouvant être travaillées sans restriction en niveau de confinement 2 (NC2).

**Tableau 1 : Agents pathogènes respiratoires détectés par la trousse FA-RP**

Agents pathogènes	Classification	Types détectés	Groupe de risque
Adenovirus	Virus (ADN)	1	GR2
Coronavirus	Virus (ARN)	4	GR2
Métapneumovirus humain	Virus (ARN)	1	GR2
Influenza A (H1, H3, H1 2009)	Virus (ARN)	3	GR2 (certains sous-types sont des GR3; voir Tableau 2)
Influenza B	Virus (ARN)	1	GR2
Parainfluenza (1 à 4)	Virus (ARN)	4	GR2
Enterovirus/Rhinovirus humain	Virus (ARN)	1	GR2
Virus respiratoire syncytial	Virus (ARN)	1	GR2
<i>Bordetella pertussis</i>	Bactérie (ADN)	1	GR2
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	Bactérie (ADN)	1	GR2
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Bactérie (ADN)	1	GR2

L'ASPC a classifié 6 sous-types d'influenza comme étant de GR3 ou GR4, tous les autres sous-types étant de GR2 (Tableau 2)<sup>4</sup>. Les sous-types classifiés comme GR4 sont des souches non circulantes reconstruites ou ayant été modifiées en laboratoire pour une virulence accrue. Toutes celles classifiées comme GR3 sont des souches aviaires pouvant être infectieuses chez l'humain. Pour le moment, ces influenzas aviaires sont présents à très bas niveau et rien n'indique qu'ils sont aptes à une transmission interhumaine soutenue. La trousse BioFire FA-RP n'est pas en mesure de les identifier au sous-type et un résultat équivoque – non-typable est obtenu.

**Tableau 2 : Sous-type du virus de la grippe A classifié comme GR3 ou GR4**

Sous-type - Influenza A	Classification	Groupe de risque	Résultat avec trousse BioFire FA-RP <sup>5</sup>
H5N1 conçue transmissible	Souche de laboratoire non circulante	GR4	non-testé
H1N1 1918 reconstruite	Souche de laboratoire non circulante	GR4	non-testé
H2N2	Influenza aviaire	GR3	Influenza A (équivoque – non typable)
H5N1	Influenza aviaire	GR3	Influenza A (équivoque – non typable)
H5N6	Influenza aviaire	GR3	Influenza A (équivoque – non typable)
H7N9	Influenza aviaire	GR3	Influenza A (équivoque – non typable)

### *Dangers associés aux influenza A de type aviaire*

Les virus de la grippe A (influenza A) sont classifiés selon les glycoprotéines de surface exprimées : l'hémagglutinine (HA) et neuraminidase (NA). Bien que 16 sous-types de HA et 9 sous type de NA chez les oiseaux sauvages et volailles, seuls 3 sous-type de HA (H1, H2, H3) et deux sous types de NA (N1 et N2) ont établi des lignées stables infectieuses pour l'humain. Les autres sous-types présents sont considérés comme souches porcines ou aviaires. Ces souches animales sont généralement peu adaptées pour infecter et se transmettre aux humains, mais leur persistance dans les populations animales peut éventuellement permettre au virus de muter et devenir hautement pathogènes et causer de graves pandémies en absence d'immunité dans les populations humaines (5).

Les infections humaines par les sous-types H2, H7 et H9 présentent des tableaux cliniques variés, allant d'infection mineure (ex. conjonctivite) ou syndrome grippal habituel (forte fièvre, mal de gorge, toux) à la pneumonie et au syndrome de détresse respiratoire aiguë. L'infection initiale des sous-types aviaires résulte habituellement d'une transmission directe du virus des sécrétions infectieuses des oiseaux via aux humains via les muqueuses. La transmission interhumaine des sous-types aviaires est limitée, bien que la transmission à l'humain puisse éventuellement mener une adaptation du virus lui permettant de se transmettre d'un individu à l'autre. La période d'incubation est habituellement de 3 à 5 jours (vs 1 à 3 jours pour les sous-types humains), mais peut aller jusqu'à 9 jours pour certains sous-types aviaires (5).

### *Évaluation de locale des risques liés utilisation de la trousse BioFire RA-RP*

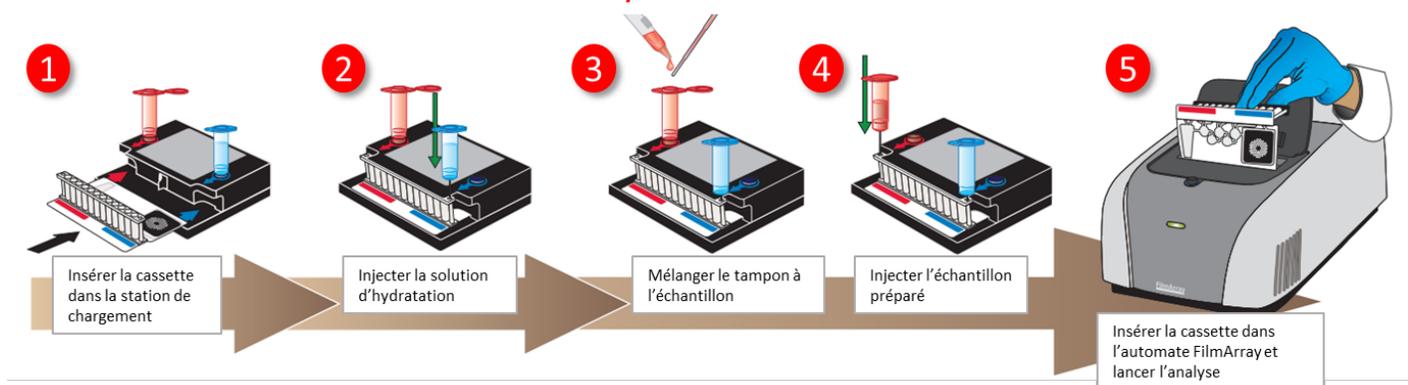
La cassette FA-RP est un système fermé jetable qui contient l'ensemble des réactifs chimiques et enzymatiques pour l'extraction, l'amplification et la détection d'acides nucléiques des agents pathogènes respiratoires présents dans un échantillon clinique. Dans le cadre de la demande actuelle, son utilisation serait limitée aux prélèvements obtenus par écouvillonnage nasopharyngé, tel que spécifié par le fabricant.

La partie rigide de la cassette est divisée en différentes cloisons cylindriques qui contiennent les réactifs et enzymes lyophilisés nécessaires pour l'analyse. La partie souple de la cassette contient plusieurs chambres de réactions qui permettent via l'action de l'automate l'extraction, l'amplification et la détection des acides nucléiques recherchés.

La procédure se divise en 5 étapes principales (Figure 2) :

1. La cassette FA-RP est retirée de son enveloppe sous vide et placée dans la station de chargement (un portoir en plastique rigide) et les tubes d'injection d'échantillon (tube rouge) et d'hydratation (tube bleu) sont placés dans le portoir.
2. Les réactifs sont hydratés en injectant la solution d'hydratation dans la cassette au port d'injection à l'aide de l'aiguille du tube d'hydratation. Le portoir doit être utilisé pour dévisser le capuchon qui protège l'aiguille du tube d'hydratation.
3. L'échantillon doit ensuite être préparé. L'ampoule de tampon d'échantillon doit être pincée pour libérer ce dernier. Une fois fait, le tube (rouge) est ouvert et une quantité donnée d'échantillon est ajoutée au tampon avec la pipette de transfert en plastique fournie. Le tube est refermé et le contenu est mélangé en inversant 3 fois le tube.
4. Le tube contenant l'échantillon est ensuite injecté dans l'orifice d'échantillon de la cassette. Pour ce faire, on doit dévisser le capuchon qui protège l'aiguille d'injection et insérer celle-ci dans le port d'injection d'échantillon.
5. La cassette est ensuite placée dans l'automate FilmArray, le programme d'analyse lancé. Les résultats sont disponibles environ une heure plus tard.

### Marche à suivre avec trousse FilmArray de BioFire



**Figure 2: Sommaire des étapes pour la détection d'agents pathogènes respiratoires avec l'automate Biofire.**

Le tableau (tableau 3) à la page suivante résume les dangers et risques identifiés à chaque étape de la procédure ainsi que les mesures d'atténuation de risque proposées. Les recommandations finales sont énumérées à la section V (page 7).

**Tableau 3 : Risques identifiés et mesure d'atténuation de risque proposées pour la trousse FA-RP BioFire**

<b>Danger (étapes/équipement)</b>	<b>Risques identifiés</b>	<b>Probabilité/ Gravité</b>	<b>Mesure d'atténuation proposées</b>
Réception de l'échantillon au laboratoire	Échantillon ayant coulé durant transport – exposition du personnel. Échantillon non conforme travaillé (ex. biopsie) – risque de piqûre/ blessure et exposition	Modérée / Modérée  Faible / Modérée	Ouverture de la boîte de transport (le cas échéant) sous ESB.  Les spécimens autres qu'écouvillons nasopharyngés ou LBA seront refusés. Vaccination offerte et recommandée au personnel
Étape 1 : préparation de la cassette	Pas de risque biologique ou chimique	Non applicable	Non applicable
Étape 2 : hydratation de la cassette	Risque chimique possible (éclaboussure)	Très faible – Très faible	Port d'EPP et lunette de protection. Solution d'hydratation présentant peu de risque.
	Piqûre avec aiguille de chargement	Très faible – Très faible	Aiguille de fort calibre présentant peu de risque de piqûre (éraflure plus probable). Utilisation du portoir et bouchon de protection atténue ce risque.
	Pas de risque biologique	Nulle/Nulle	
Étape 3 : préparation de l'échantillon (préparation mélange tampon – échantillon)	Risque chimique - éclaboussure avec tampon de l'échantillon contenant guanidium HCl et Triton X-100 : toxicité aiguë, lésions oculaires graves et irritation cutanée.	Faible – Modérée	Port d'EPP et lunette de protection. Risque de fuite faible puisqu'il s'agit d'un système fermé.
	Risque biologique – exposition via éclaboussure, piqûre/blessure, inhalation aérosols, déversement.	Faible - Modérée	Port d'EPP de NC3 (Lunette, N95, blouse, couvre botte, port de deux paires de gants) et travail sous ESB. Godets fermés pour centrifugation. Interdiction d'utiliser objet tranchant et coupant (utilisation de la pipette de transfert en plastique fournie). Local sous pression négative (recommandé), inaccessible ou protégé pendant les manipulations. Désinfectant efficace (alcool 70% et eau de javel) disponible en qtée suffisante en cas de déversement

Étape 4 : injection de l'échantillon	Idem à étape 3 Blessure avec aiguille de chargement non-tranchante	Faible - Faible	Idem à étape 2 et 3 (effectué sous ESB avec EPP de NC3) <b>Note</b> : le virus de l'influenza est inactivé à l'étape précédente (par dénaturation des acides nucléiques et membranes) une fois mélangé au tampon d'échantillon contenant du guanidium-HCl (9) Ports de deux paires de gants
Étape 5 : injection de l'échantillon	Déversement ou fuite de l'échantillon hors ESB (plus probablement via le port d'injection)	Très faible – Faible	Agent pathogène inactivé par tampon d'échantillon contenant guanidium-HCl (voir étape 4). Port d'injection avec reflux minimal dans la cartouche
Traitement des déchets et décontamination des équipements et surface de travail	Exposition due à mauvaise décontamination des surfaces de travail ou piqûre/blessure déversement avec déchets	Faible – Modérée	Inclure décontamination obligatoire de tous les équipements (incluant portoir) et surfaces de travail avec désinfectant (effectué avec EPP). Déchets et EPP autoclavés – remise de bouchon de protection sur aiguille d'injection, pipettes jetées dans contenant cartonné pour limiter le risque de piqûre/blessure.  La pipette de transfert utilisée présente le plus grand risque car elle est en contact avec l'échantillon clinique, mais n'est pas désinfectée

## Performance analytique de la trousse bioFire FA RP

La trousse bioFire RP (v1.7) permet de détecter séparément les cibles suivantes :

- FluA pan-1 (M gene)
- FluA pan-2 (NS1 gene)
- H1
- H3

Les influenzas H2, H5 et H7 apparaissent donc comme des influenza A équivoques ou non-typables. La notice du fabricant confirme ces résultats avec des tests effectués avec des influenza aviaires :

H2N3	Avian	MRI Global <sup>i</sup>	Mallard/Alberta/79/2003	3x	Influenza A Equivocal
H5N1		MRI Global <sup>l</sup>	A/Chicken/Yunnan/1251/2003	3x	Influenza A (no subtype detected)
H5N2		MRI Global <sup>i</sup>	Northern pintail/Washington/40964/2014	3x	
H5N3		BEI NR-9682 <sup>J</sup>	A/Duck/Singapore/645/1997	3x	
H5N8		MRI Global <sup>l</sup>	Gyrfalcon/Washington/41088-6/2014	3x	
H7N7		MRI Global <sup>l</sup>	A/Netherlands/219/2003	3x	
H7N9		MRI Global <sup>l</sup>	A/Anhui/01/2013	3x	
H10N7		BEI NR-2765 <sup>k</sup>	Chicken/Germany/N/49	3x	Influenza A Equivocal

De plus, une étude de Chan et al. (8) a été publiée en 2017 sur la performance de la trousse RP pour des influenzas aviaires ou porcins. Les auteurs ont testé des souches H2N2, H5N1, H7N9, H5N6 et H9N2. La sensibilité analytique moyenne du bioFire est de 0.8 TCID50/mL. La trousse a permis d'identifier toutes les souches correctement en tant qu'influenza A non-typable ou équivoque.

### Analyses (éluats)

Quatre éluats de 20uL ont été dilués dans 300uL tampon d'extraction, puis testés sur la trousse :

Échantillons	TAAN LSPQ Flu A (Ct)	TAAN LSPQ sous-typage (valeur Ct)	Résultat Biofire CHUL	Détails détection PanFLUA CHUL
KH051301	29.63	H7 (32.78)	négatif	NA
KH051400	29.20	H7 (31.8)	Flu A Équivoque	FluA-pan1 POS
KH051399	30.97	H5 (34.69)	Flu A Équivoque	FluA-pan1 POS
KH051299	30.55	H5 (34.5)	négatif	NA

### Analyses (cultures inactivées)

À partir des cultures virales inactivées de H5N1 et de H7N3 envoyées par le LNM et reçues au LSPQ le 27 octobre 2004, la préparation d'une série de dilution pour comparaison entre les tests PCR Flu A, et sous-typage H5 et H7 (CDC InfH7), a été effectuée à l'aide de dilutions sériées

200µl de la dilution a été utilisé pour extraction dans le easyMag et 300µl pour le BioFire.

### Résultats

H5N1	TAAN LSPQ Flu A Ct	TAAN LSPQ sous-type H5 Ct	BioFire FA RP2		
			Pan1	Pan2	Interprétation
H5N1 10 <sup>e</sup> -1	21,74	30,27	Pos	Pos	Flu A non-typable
H5N1 10 <sup>e</sup> -3	28,91	37,06	Pos	Pos	Flu A non-typable
H5N1 10 <sup>e</sup> -5	36,33	Non-déecté	Nég	Nég	Non détecté

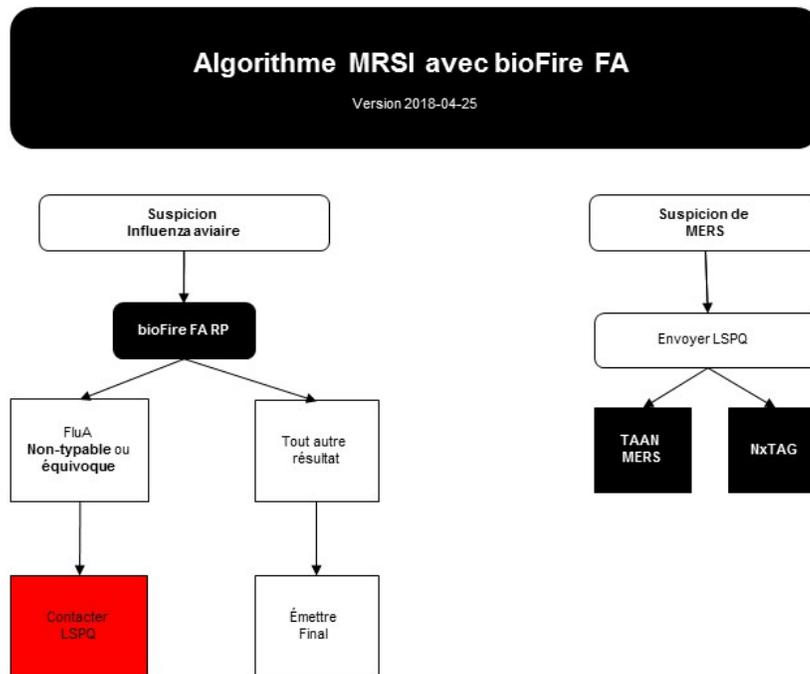
H7N3	TAAN LSPQ Flu A Ct	TAAN LSPQ sous-type H7 Ct	BioFire FA RP2		
			Pan1	Pan2	Interprétation
H7N3 10 <sup>e</sup> -1	24,10	29,40	Pos	pos	Flu A non-typable
H7N3 10 <sup>e</sup> -3	31,20	36,07	Pos	Neg	Flu A Équivoque

## Recommandations

- 1- En respect des avis de biosécurité de l'ASPC et suivant l'évaluation de risque effectuée, les TAAN avec la trousse BioFire FilmArray Respiratory Panel (RP) sur des échantillons respiratoires peuvent être réalisées dans une installation de NC2 sous réserve des exigences de biosécurité additionnelles, soit :
  - a. Le local utilisé devrait être non accessible durant les manipulations (barré, ou affiche indiquant accès interdit). L'utilisation d'un local en pression négative est aussi recommandé (si disponible).
  - b. Les employés dans la zone de travail en laboratoire doivent revêtir
    - i. Blouse chirurgicale
    - ii. Deux paires de gants (intérieur et extérieur par-dessus les poignets de la blouse)
    - iii. Lunettes de protection ou visière anti-éclaboussures étanches
    - iv. Protection de type N95 ou équivalente
    - v. Couvre-chaussures
  - c. Seuls des écouvillons nasopharyngés ou LBA dans un milieu de transport viral seront acceptés et travaillés. Les prélèvements sanguins, biopsies ou autres spécimens cliniques seront refusés.
  - d. Toutes les manipulations doivent être effectuées sous ESB (seule l'étape du TAAN sera autorisée hors ESB).
  - e. Si requise, la centrifugation des spécimens cliniques doit se faire avec godets ou rotors étanches et ceux-ci chargés et vidés que sous ESB.
  - f. L'utilisation d'aiguilles, d'instruments tranchants/coupants, de matériel en verre est interdite.
  - g. L'utilisation d'objets piquants ou pointus (ex. pointes micropipettes) doit être limitée. Ces objets devront être placés dans un contenant résistant à la perforation avant d'être jetés pour éviter les blessures lors de la manipulation des déchets.
  - h. Après la session de travail, l'ESB doit être décontaminée ainsi que tout objet s'y trouvant. Tout matériel ayant servi pendant les manipulations doit être décontaminé (ex. portoir BioFire, pipette, centrifugeuse et godet). l'isopropanol ou éthanol 70% et l'eau de javel 1% sont des désinfectants efficaces pour les influenza (2,3)
  - i. Les EPP réutilisables (ex. lunettes de protection) devront être décontaminés et blouses autoclavées avant réutilisation s'il ne s'agit pas de blouses jetables
  - j. Le transport des échantillons doit se faire selon la réglementation de Transport Canada, et l'ouverture du colis, le cas échéant, toujours effectué sous ESB.
  - k. La vaccination pour la grippe saisonnière est recommandée et doit offerte au personnel.
- 2- Une trousse différente que bioFire pourrait être utilisé par un laboratoire hospitalier pour accélérer la prise en charge du diagnostic d'un influenza aviaire si les conditions suivantes sont remplies
  - a. Le TAAN doit pouvoir différencier les influenza A H1, H3 et non-tyrables
  - b. Une évaluation locale de risques biologiques est effectuée
  - c. Revue des évidences scientifiques de la trousse
  - d. Validation de la sensibilité et spécificité
- 3- Le LSPQ a procédé à l'évaluation de la trousse bioFire RP2

- a. Les éluats négatifs sur bioFire peuvent être expliqués par le fait de ré-extraire des ARN congelés
  - b. La revue de littérature disponible et les tests effectués avec les cultures virales concordent sur le fait que les influenza aviaires qui circulent seraient détectés par la trousse en tant qu'influenza A non-typables ou équivoques
- 4- Tout échantillon positif pour influenza A non-typable ou équivoque doit être référé immédiatement au LSPQ pour typage et confirmation selon l'algorithme suivant :

### Algorithme de prise en charge MRSI par un laboratoire hospitalier



## Versions

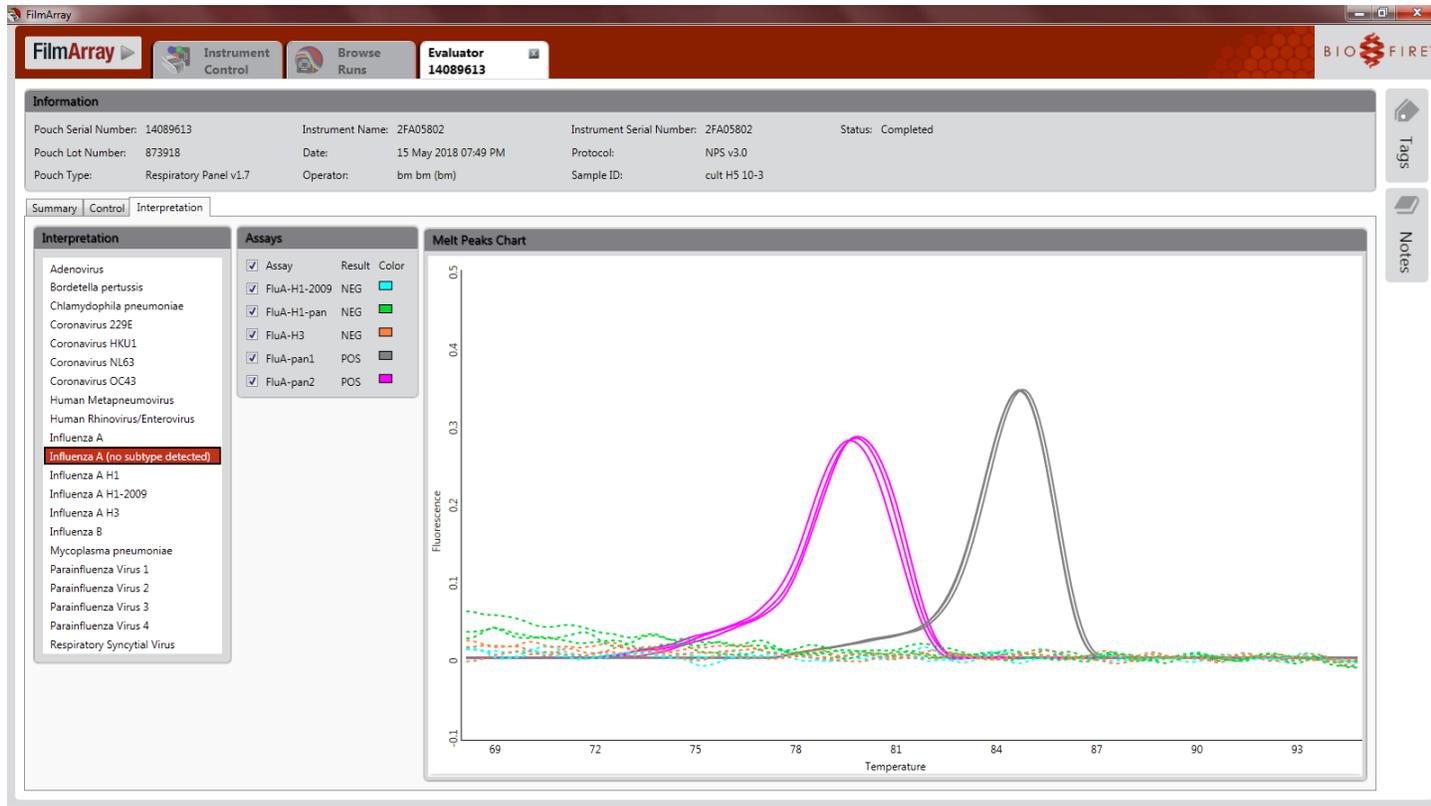
Versions	Date	Auteurs	Modifications
1.0	2018-06-04	Jean Longtin Philippe Dufresne Lyne Desautels Nathalie Boucher René Pelletier Ronald Bérubé	Création

## RÉFÉRENCES

1. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/directives-avis-avis-speciaux-matiere-biosecurite.html>
2. Norme canadienne sur la biosécurité (2015) 2e édition, Gouvernement du Canada Ottawa, ON, Canada, 168 p.
3. Norme canadienne et lignes directrices sur la biosécurité (2013) 1ere édition, Gouvernement du Canada Ottawa, ON, Canada (cette version n'est plus en vigueur).
4. De Benedictis P;Beato MS;Capua I. Inactivation of avian influenza viruses by chemical agents and physical conditions: a review. *Zoonoses Public Health* 2007;54(2):51-68 PMID: 17348909
5. Fiche Technique Santé-Sécurité de l'ASPC: Virus de a grippe sous-types H5, H7, et H9. <https://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire/fiches-techniques-sante-securite-agents-pathogenes-evaluation-risques/virus-grippal-type-a.html>
6. Source - Portail de Biosûreté de l'ASPC accessible via : [www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire.html](http://www.canada.ca/fr/sante-publique/services/biosecurite-biosurete-laboratoire.html) (consulté 2018-05-23)
7. 510(k) SUBSTANTIAL EQUIVALENCE DETERMINATION DECISION SUMMARY K170604
8. Chan et al. Evaluation of NxTAG Respiratory Pathogen Panel and Comparison with xTAG Respiratory Viral Panel Fast v2 and Film Array Respiratory Panel for Detecting Respiratory Pathogens in Nasopharyngeal Aspirates and Swine/Avian-Origin Influenza A Subtypes in Culture Isolates *Advances in Virology* Volume 2017.
9. David-West, T. (1974). Biophysical and immunological studies on the differential effect of guanidine hydrochloride on type A and type B influenza viruses. *Journal of Hygiene*, 72(1), 31-39. doi:10.1017/S0022172400023172

## Annexes – rapports et courbes

1<sup>er</sup> essai sur le Biofire avec la dilution 10<sup>-3</sup> est concluant; Résultat = Influenza A sous-type indéterminé.











Fait par : LD

Date : 2018-05-15

Échantillon contrôle	N° de laboratoire	Type (A ou E)*	Date d'extraction
+ <u>FluA</u>	<u>S6 20140205</u>	<u>E/A</u>	<u>20180515</u>
+ <u>HS</u>	<u>C+ LNH</u>	<u>A</u>	<u>20160302</u>
+ <u>H7</u>	<u>C+H710<sup>-2</sup> LNH</u>	<u>A</u>	<u>2004-11-29</u>
+ _____			
+ _____			
+ _____			
négatif	<u>M8 20171016</u>	<u>E/A</u>	<u>20180515</u>

\* A; amplification, E; extraction

No lot - Eau DEPC contrôle d'amplification : \_\_\_\_\_ Date de péremption : \_\_\_\_\_

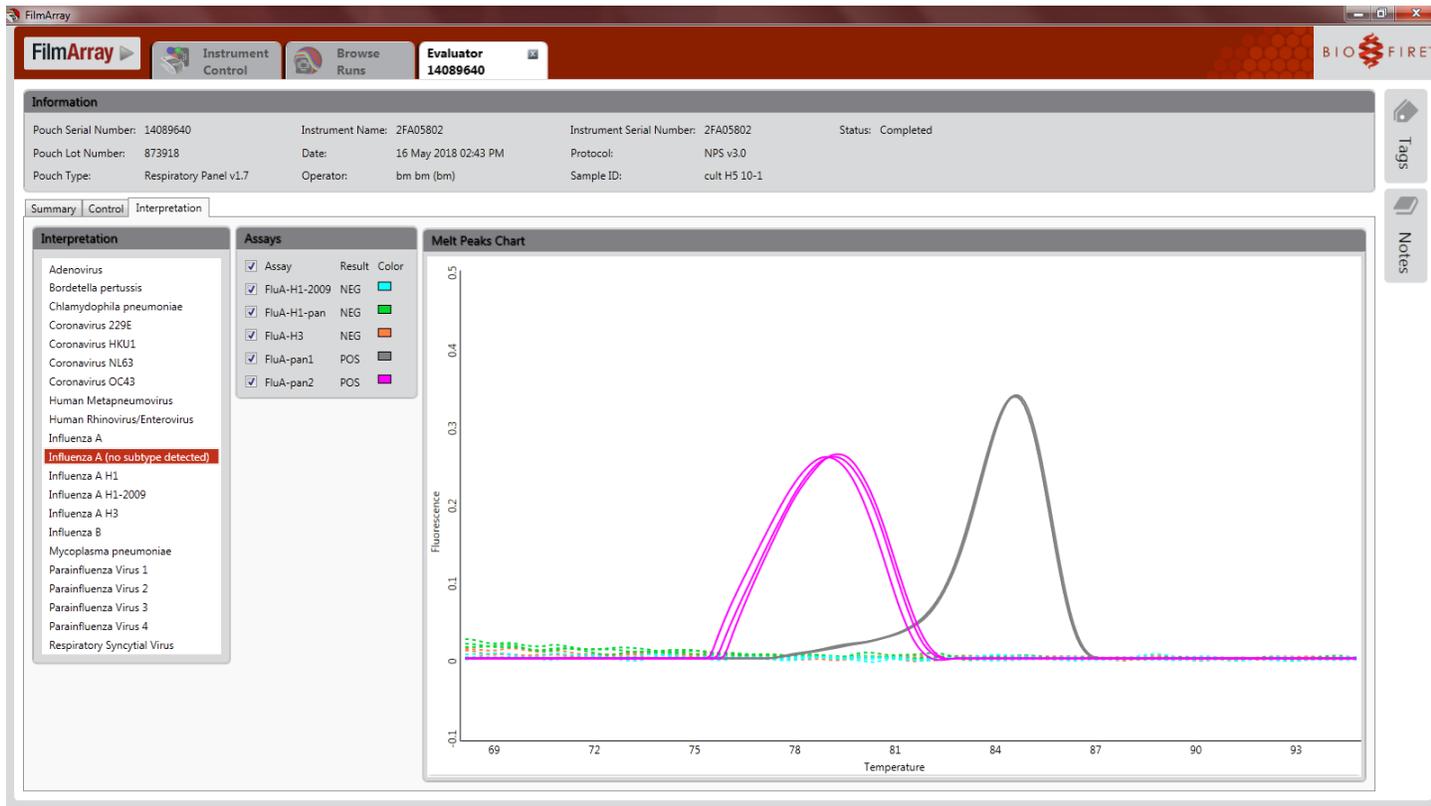
Résultats <input checked="" type="checkbox"/> RT-PCR détection en temps réel (valeur Ct) <input type="checkbox"/> RT-PCR détection conventionnelle						
N° de laboratoire	Cible <u>FluA</u>	Cible <u>HS</u>	Cible <u>H7</u>	Cible _____	Cible _____	Cible _____
<u>cult. HS 10<sup>-1</sup></u>	<u>+ (21,738)</u>	<u>+ (30,265)</u>	<u>/</u>	<u>/</u>	<u>/</u>	<u>/</u>
<u>10<sup>-2</sup></u>	<u>+ (25,224)</u>	<u>+ (33,937)</u>				
<u>→ 10<sup>-3</sup></u>	<u>+ (28,914)</u>	<u>+ (37,064)</u>				
<u>10<sup>-4</sup></u>	<u>+ (32,467)</u>	<u>+ (39,054)</u>				
<u>10<sup>-5</sup></u>	<u>+ (36,336)</u>	<u>-</u>				
<u>10<sup>-6</sup></u>	<u>+ (37,350)</u>	<u>-</u>				
<u>cult. H7 10<sup>-1</sup></u>	<u>+ (24,102)</u>	<u>/</u>	<u>+ (29,401)</u>	<u>/</u>	<u>/</u>	<u>/</u>
<u>10<sup>-2</sup></u>	<u>+ (27,726)</u>		<u>+ (33,112)</u>			
<u>10<sup>-3</sup></u>	<u>+ (31,199)</u>		<u>+ (36,071)</u>			
<u>10<sup>-4</sup></u>	<u>+ (34,359)</u>		<u>-</u>			
<u>10<sup>-5</sup></u>	<u>-</u>		<u>-</u>			
<u>10<sup>-6</sup></u>	<u>-</u>		<u>-</u>			

Validation : \_\_\_\_\_

Date : \_\_\_\_\_

2<sup>e</sup> essai culture H5 10-1

2018-05-16 LD





**FilmArray™  
Respiratory Panel**



[www.BioFireDx.com](http://www.BioFireDx.com)

Run Summary			
<b>Sample ID:</b>	cult H5 10-1	<b>Run Date:</b>	16 May 2018 2:43 PM
<b>Detected:</b>	Influenza A (no subtype detected)	<b>Controls:</b>	Passed
<b>Equivocal:</b>	None		

Result Summary	
Not Detected	Adenovirus
Not Detected	Coronavirus 229E
Not Detected	Coronavirus HKU1
Not Detected	Coronavirus NL63
Not Detected	Coronavirus OC43
Not Detected	Human Metapneumovirus
Not Detected	Human Rhinovirus/Enterovirus
✓ Detected	Influenza A (no subtype detected)
Not Detected	Influenza B
Not Detected	Parainfluenza Virus 1
Not Detected	Parainfluenza Virus 2
Not Detected	Parainfluenza Virus 3
Not Detected	Parainfluenza Virus 4
Not Detected	Respiratory Syncytial Virus
Not Detected	<i>Bordetella pertussis</i>
Not Detected	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>
Not Detected	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>

Run Details			
<b>Pouch:</b>	Respiratory Panel v1.7	<b>Protocol:</b>	NPS v3.0
<b>Run Status:</b>	Completed	<b>Operator:</b>	bm bm (bm)
<b>Serial No.:</b>	14089640	<b>Instrument:</b>	2FA05802
<b>Lot No.:</b>	873918		



**FilmArray™  
Respiratory Panel**



www.BioFireDx.com

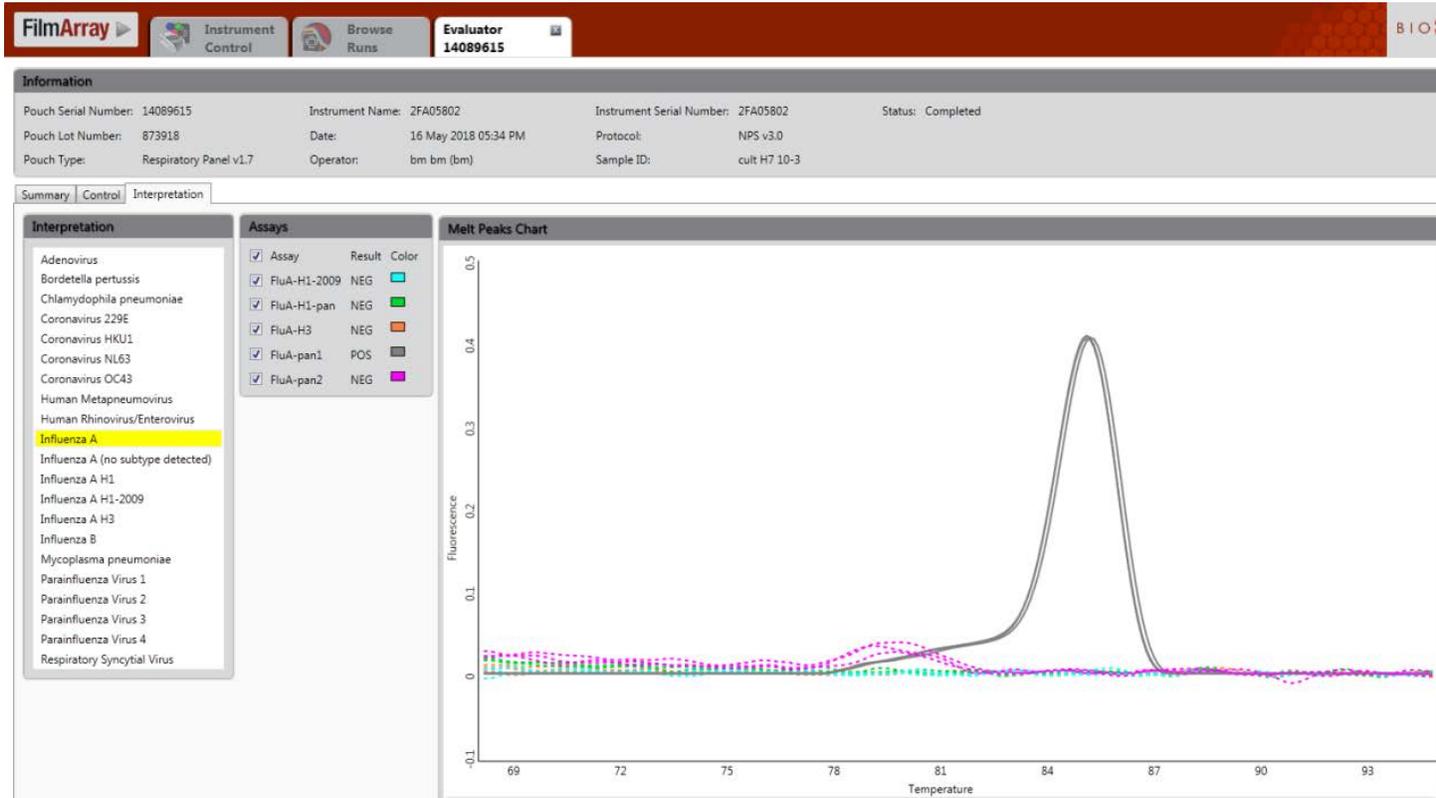
**Run Summary**

<b>Sample ID:</b> cult H5 10-1	<b>Run Date:</b> 16 May 2018 2:43 PM
<b>Detected:</b> Influenza A (no subtype detected)	<b>Controls:</b> Passed
<b>Equivocal:</b> None	

**Result Details**

Result	Interpretation	Call	Assay
Not Detected	Adenovirus	Negative Negative	Adeno Adeno2
Not Detected	Coronavirus 229E	Negative	CoV-229E
Not Detected	Coronavirus HKU1	Negative	CoV-HKU1
Not Detected	Coronavirus NL63	Negative	CoV-NL63
Not Detected	Coronavirus OC43	Negative	CoV-OC43
Not Detected	Human Metapneumovirus	Negative	hMPV
Not Detected	Human Rhinovirus/Enterovirus	Negative Negative Negative Negative Negative	Entero1 Entero2 HRV1 HRV2 HRV3 HRV4
✓ Detected	Influenza A (no subtype detected)	Negative Negative Negative Positive Positive	FluA-H1-2009 FluA-H1-pan FluA-H3 FluA-pan1 FluA-pan2
Not Detected	Influenza B	Negative	FluB
Not Detected	Parainfluenza Virus 1	Negative	PIV1
Not Detected	Parainfluenza Virus 2	Negative	PIV2
Not Detected	Parainfluenza Virus 3	Negative	PIV3
Not Detected	Parainfluenza Virus 4	Negative	PIV4
Not Detected	Respiratory Syncytial Virus	Negative	RSV
Not Detected	<i>Bordetella pertussis</i>	Negative	Bper
Not Detected	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	Negative	Cpne
Not Detected	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Negative	Mpne
Result	Control	Call	Assay
Pass	PCR2 Control	Positive	PCR2
Pass	RNA Process Control	Positive	yeastRNA

### 3° essai culture H7 10-3





**FilmArray™  
Respiratory Panel**



www.BioFireDx.com

Run Summary	
Sample ID:	cult H7 10-3
Detected:	None
Equivocal:	↔ Influenza A
Run Date:	16 May 2018 5:34 PM
Controls:	Passed

Result Summary	
Not Detected	Adenovirus
Not Detected	Coronavirus 229E
Not Detected	Coronavirus HKU1
Not Detected	Coronavirus NL63
Not Detected	Coronavirus OC43
Not Detected	Human Metapneumovirus
Not Detected	Human Rhinovirus/Enterovirus
↔ Equivocal	Influenza A
Not Detected	Influenza B
Not Detected	Parainfluenza Virus 1
Not Detected	Parainfluenza Virus 2
Not Detected	Parainfluenza Virus 3
Not Detected	Parainfluenza Virus 4
Not Detected	Respiratory Syncytial Virus
Not Detected	<i>Bordetella pertussis</i>
Not Detected	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>
Not Detected	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>

Run Details	
Pouch:	Respiratory Panel v1.7
Run Status:	Completed
Serial No.:	14089615
Lot No.:	873918
Protocol:	NPS v3.0
Operator:	bm bm (bm)
Instrument:	2FA05802



# FilmArray™ Respiratory Panel

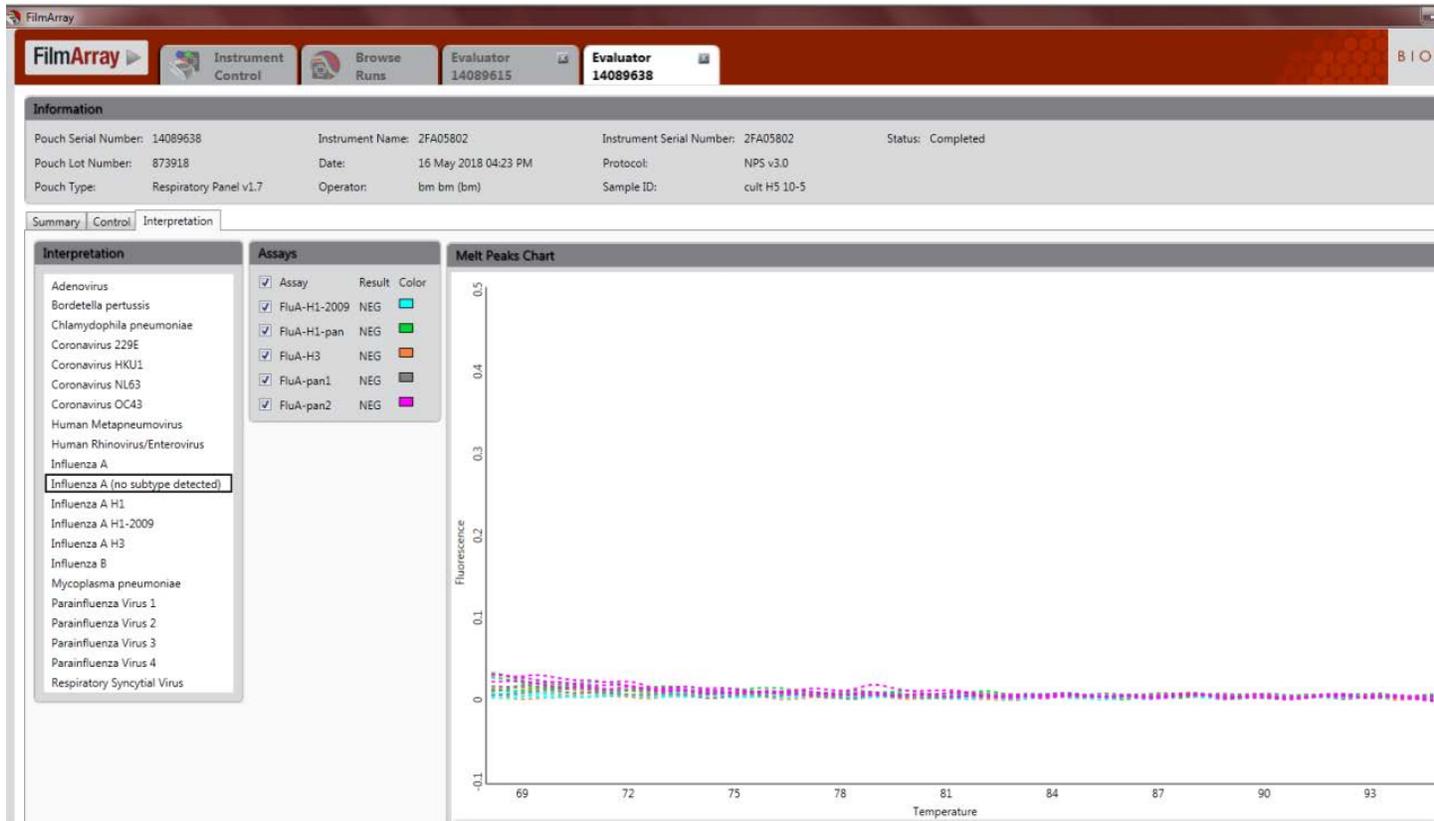


www.BioFireDx.com

Run Summary			
Sample ID:	cult H7 10-3	Run Date:	16 May 2018 5:34 PM
Detected:	None	Controls:	Passed
Equivocal:	↔ Influenza A		

Result Details			
Result	Interpretation	Call	Assay
Not Detected	Adenovirus	Negative Negative	Adeno Adeno2
Not Detected	Coronavirus 229E	Negative	CoV-229E
Not Detected	Coronavirus HKU1	Negative	CoV-HKU1
Not Detected	Coronavirus NL63	Negative	CoV-NL63
Not Detected	Coronavirus OC43	Negative	CoV-OC43
Not Detected	Human Metapneumovirus	Negative	hMPV
Not Detected	Human Rhinovirus/Enterovirus	Negative Negative Negative Negative Negative Negative	Entero1 Entero2 HRV1 HRV2 HRV3 HRV4
↔ Equivocal	Influenza A	Negative Negative Negative Positive Negative	FluA-H1-2009 FluA-H1-pan FluA-H3 FluA-pan1 FluA-pan2
Not Detected	Influenza B	Negative	FluB
Not Detected	Parainfluenza Virus 1	Negative	PIV1
Not Detected	Parainfluenza Virus 2	Negative	PIV2
Not Detected	Parainfluenza Virus 3	Negative	PIV3
Not Detected	Parainfluenza Virus 4	Negative	PIV4
Not Detected	Respiratory Syncytial Virus	Negative	RSV
Not Detected	<i>Bordetella pertussis</i>	Negative	Bper
Not Detected	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	Negative	Cpne
Not Detected	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Negative	Mpne
Result	Control	Call	Assay
Pass	PCR2 Control	Positive	PCR2
Pass	RNA Process Control	Positive	yeastRNA

# 4<sup>e</sup> essai culture H5 10-5





**FilmArray™  
Respiratory Panel**



[www.BioFireDx.com](http://www.BioFireDx.com)

**Run Summary**

<b>Sample ID:</b> cult H5 10-5	<b>Run Date:</b> 16 May 2018 4:23 PM
<b>Detected:</b> None	<b>Controls:</b> Passed
<b>Equivocal:</b> None	

**Result Summary**

Not Detected	Adenovirus
Not Detected	Coronavirus 229E
Not Detected	Coronavirus HKU1
Not Detected	Coronavirus NL63
Not Detected	Coronavirus OC43
Not Detected	Human Metapneumovirus
Not Detected	Human Rhinovirus/Enterovirus
Not Detected	Influenza A
Not Detected	Influenza B
Not Detected	Parainfluenza Virus 1
Not Detected	Parainfluenza Virus 2
Not Detected	Parainfluenza Virus 3
Not Detected	Parainfluenza Virus 4
Not Detected	Respiratory Syncytial Virus
Not Detected	<i>Bordetella pertussis</i>
Not Detected	<i>Chlamydia pneumoniae</i>
Not Detected	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>

**Run Details**

<b>Pouch:</b> Respiratory Panel v1.7	<b>Protocol:</b> NPS v3.0
<b>Run Status:</b> Completed	<b>Operator:</b> bm bm (bm)
<b>Serial No.:</b> 14089638	<b>Instrument:</b> 2FA05802
<b>Lot No.:</b> 873918	



# FilmArray™ Respiratory Panel



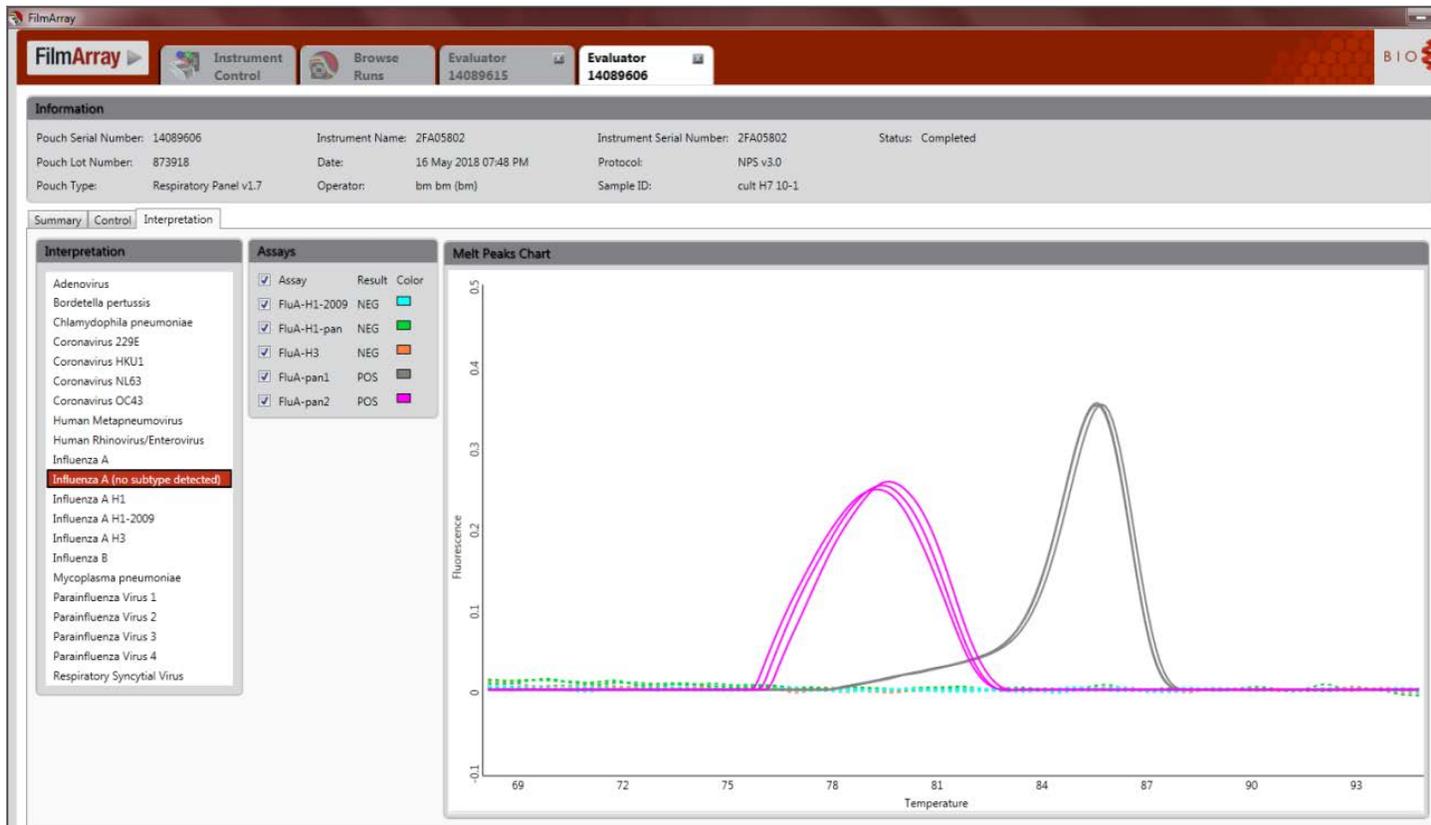
[www.BioFireDx.com](http://www.BioFireDx.com)

Run Summary			
<b>Sample ID:</b>	cult H5 10-5	<b>Run Date:</b>	18 May 2018 4:23 PM
<b>Detected:</b>	None	<b>Controls:</b>	Passed
<b>Equivocal:</b>	None		

Result Details			
Result	Interpretation	Call	Assay
Not Detected	Adenovirus	Negative Negative	Adeno Adeno2
Not Detected	Coronavirus 229E	Negative	CoV-229E
Not Detected	Coronavirus HKU1	Negative	CoV-HKU1
Not Detected	Coronavirus NL63	Negative	CoV-NL63
Not Detected	Coronavirus OC43	Negative	CoV-OC43
Not Detected	Human Metapneumovirus	Negative	hMPV
Not Detected	Human Rhinovirus/Enterovirus	Negative Negative Negative Negative Negative	Entero1 Entero2 HRV1 HRV2 HRV3 HRV4
Not Detected	Influenza A	Negative Negative Negative Negative	FluA-H1-2009 FluA-H1-pan FluA-H3 FluA-pan1 FluA-pan2
Not Detected	Influenza B	Negative	FluB
Not Detected	Parainfluenza Virus 1	Negative	PIV1
Not Detected	Parainfluenza Virus 2	Negative	PIV2
Not Detected	Parainfluenza Virus 3	Negative	PIV3
Not Detected	Parainfluenza Virus 4	Negative	PIV4
Not Detected	Respiratory Syncytial Virus	Negative	RSV
Not Detected	<i>Bordetella pertussis</i>	Negative	Bper
Not Detected	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	Negative	Cpne
Not Detected	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Negative	Mpne
Result	Control	Call	Assay
Pass	PCR2 Control	Positive	PCR2
Pass	RNA Process Control	Positive	yeastRNA



# 4<sup>e</sup> essai culture H5 10-5





**FilmArray™  
Respiratory Panel**



[www.BioFireDx.com](http://www.BioFireDx.com)

Run Summary			
<b>Sample ID:</b>	cult H7 10-1	<b>Run Date:</b>	16 May 2018 7:48 PM
<b>Detected:</b>	Influenza A (no subtype detected)	<b>Controls:</b>	Passed
<b>Equivocal:</b>	None		

Result Summary	
Not Detected	Adenovirus
Not Detected	Coronavirus 229E
Not Detected	Coronavirus HKU1
Not Detected	Coronavirus NL63
Not Detected	Coronavirus OC43
Not Detected	Human Metapneumovirus
Not Detected	Human Rhinovirus/Enterovirus
✓ Detected	Influenza A (no subtype detected)
Not Detected	Influenza B
Not Detected	Parainfluenza Virus 1
Not Detected	Parainfluenza Virus 2
Not Detected	Parainfluenza Virus 3
Not Detected	Parainfluenza Virus 4
Not Detected	Respiratory Syncytial Virus
Not Detected	<i>Bordetella pertussis</i>
Not Detected	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>
Not Detected	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>

Run Details			
<b>Pouch:</b>	Respiratory Panel v1.7	<b>Protocol:</b>	NPS v3.0
<b>Run Status:</b>	Completed	<b>Operator:</b>	bm bm (bm)
<b>Serial No.:</b>	14089608	<b>Instrument:</b>	2FA05802
<b>Lot No.:</b>	873918		



# FilmArray™ Respiratory Panel



www.BioFireDx.com

Run Summary			
<b>Sample ID:</b>	cult H7 10-1	<b>Run Date:</b>	16 May 2018 7:48 PM
<b>Detected:</b>	Influenza A (no subtype detected)	<b>Controls:</b>	Passed
<b>Equivocal:</b>	None		

Result Details			
Result	Interpretation	Call	Assay
Not Detected	Adenovirus	Negative Negative	Adeno Adeno2
Not Detected	Coronavirus 229E	Negative	CoV-229E
Not Detected	Coronavirus HKU1	Negative	CoV-HKU1
Not Detected	Coronavirus NL63	Negative	CoV-NL63
Not Detected	Coronavirus OC43	Negative	CoV-OC43
Not Detected	Human Metapneumovirus	Negative	hMPV
Not Detected	Human Rhinovirus/Enterovirus	Negative Negative Negative Negative Negative	Enterov1 Enterov2 HRV1 HRV2 HRV3 HRV4
✓ Detected	Influenza A (no subtype detected)	Negative Negative Negative Positive Positive	FluA-H1-2009 FluA-H1-pan FluA-H3 FluA-pan1 FluA-pan2
Not Detected	Influenza B	Negative	FluB
Not Detected	Parainfluenza Virus 1	Negative	PIV1
Not Detected	Parainfluenza Virus 2	Negative	PIV2
Not Detected	Parainfluenza Virus 3	Negative	PIV3
Not Detected	Parainfluenza Virus 4	Negative	PIV4
Not Detected	Respiratory Syncytial Virus	Negative	RSV
Not Detected	<i>Bordetella pertussis</i>	Negative	Bper
Not Detected	<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	Negative	Cpne
Not Detected	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Negative	Mpne
Result	Control	Call	Assay
Pass	PCR2 Control	Positive	PCR2
Pass	RNA Process Control	Positive	yeastRNA

