

Juillet 2021

Mode d'emploi (manuel) du *artus*[®] SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit



Version 1



Pour utilisation diagnostique in vitro

Pour utilisation sur les instruments Rotor-Gene[®] Q MDx 5plex HRM
et ABI[®] 7500 Fast Dx



4511460, 4511469



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, ALLEMAGNE

R2

Contenu

Utilisation prévue	4
Description et principe	5
Informations sur l'agent pathogène	5
Résumé et explications	6
Matériel fourni.....	10
Contenu du kit.....	10
Composants du kit.....	11
Plates-formes et logiciels	12
Matériel nécessaire, mais non fourni	13
Consommables	13
Équipement.....	13
Avertissements et précautions	14
Informations de sécurité.....	14
Précautions	15
Stockage et manipulation des réactifs.....	16
Transport, stockage et manipulation des échantillons	16
Prélèvement, transport et stockage des échantillons	16
Protocole : préparation des échantillons et détection du SARS-CoV-2 sur le RGQ MDx 5plex HRM.....	17
Protocole : préparation des échantillons et détection du SARS-CoV-2 sur le ABI 7500 Fast Dx	23
Résultats	28

Interprétation des résultats.....	30
Limitations.....	33
Performances	34
Sensibilité analytique (Limite de détection)	34
Études de spécificité analytique (inclusivité et exclusivité/réactivité croisée).....	34
Substances interférentes	40
Précision	41
Performances cliniques.....	42
Références	46
Guide de dépannage.....	47
Symboles.....	49
Coordonnées	50
Informations pour commander.....	51
Historique des révisions du document.....	52

Utilisation prévue

Le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit est un test real-time RT-PCR destiné à la détection qualitative des acides nucléiques du SARS-CoV-2 dans les échantillons nasopharyngés sur écouvillons (Nasopharyngeal Swab, NPS), les échantillons nasopharyngés sur écouvillons et les échantillons oropharyngés sur écouvillons de patients montrant des signes et symptômes d'infection ou des personnes sans symptômes ni d'autres raisons de suspecter une infection par COVID-19.

Il doit favoriser le diagnostic du COVID-19 en phase aiguë de l'infection, en complément des observations cliniques, des antécédents du patient et des informations épidémiologiques.

Le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit doit être utilisé au sein d'un laboratoire de biologie moléculaire par des professionnels, notamment des techniciens de laboratoire clinique dûment formés, qui maîtrisent les techniques de real-time PCR et les procédures de diagnostic *in vitro*.

Des résultats négatifs n'écartent pas pour autant une infection au SARS-CoV-2 et les décisions de prise en charge du patient ne doivent en aucun cas être fondées sur ce seul élément.

Le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit doit être utilisé avec le Rotor-Gene Q (RGQ) MDx System ou le ABI 7500 Fast Dx comme systèmes de real-time PCR.

Description et principe

Informations sur l'agent pathogène

Les coronavirus, un genre de la famille des *Coronaviridae*, sont de gros virus enveloppés, à ARN à brin positif, qui provoquent une maladie particulièrement virulente chez les êtres humains et les animaux domestiques (1). Les coronavirus infectent les êtres humains dans un tiers des cas d'états grippaux courants et sont en outre une cause bien connue d'infections nosocomiales des voies respiratoires supérieures chez les bébés prématurés (2).

Un nouveau membre de la famille des coronavirus a provoqué une épidémie de maladie respiratoire à Wuhan, en Chine (1, 3). Tout d'abord baptisé nouveau coronavirus (2019-nCoV), le SARS-CoV-2 se distingue du SARS-CoV (1, 3) responsable de l'épidémie de 2003 et du MERS-CoV, qui circule au Moyen-Orient depuis 2012. Le SARS-CoV-2 est l'agent responsable du COVID-19. L'ARN du SARS-CoV-2 peut être détecté au cours des phases précoce et aiguë de l'infection dans divers échantillons des voies respiratoires supérieures (échantillons nasaux, oropharyngés et nasopharyngés sur écouvillons) (3).

Associés aux antécédents du patient et à l'épidémiologie du SARS-CoV-2, les dosages de RT-PCR sont devenus la référence en matière de diagnostic du SARS-CoV-2. Le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) propose de combiner les dosages de RT-PCR et les immunodosages pour surveiller le statut de l'infection et évaluer l'efficacité des mesures de restrictions prises pour enrayer l'épidémie (4, 5).

Le dosage SARS-CoV-2 Prep&Amp UM cible 2 gènes viraux (N1 et N2) détectés avec le même canal de fluorescence. Les deux cibles de gènes ne sont pas différenciées, et l'amplification de l'une des cibles ou des deux donne un signal de fluorescence. Des résultats positifs indiquent la présence du virus SARS-CoV-2 sans pour autant exclure une co-infection par d'autres agents pathogènes. En même temps, des résultats de RT-PCR négatifs n'excluent pas une possible infection.

Résumé et explications

Le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit est un système prêt à l'emploi comprenant une étape simple de préparation des échantillons suivie de la détection de l'ARN du SARS-CoV-2 par RT-PCR sur le système RGQ MDx ou sur les plates-formes ABI 7500 Fast Dx (Figure 1). Le SARS-CoV-2 UM Amp Buffer contient des réactifs et des enzymes destinés à l'amplification spécifique d'une paire de bases (pb) de 72 et d'une région à 67 pb du génome de l'ARN du SARS-CoV-2 ainsi qu'à leur détection directe dans le canal de fluorescence « Green » des instruments RGQ MDx, et avec le filtre de fluorescence A/1 du ABI 7500 Fast Dx.

Le mélange de sondes et d'amorces du *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit contient également les oligonucléotides requis pour les amplifications de la RNase P. Lorsqu'ils sont détectés dans le canal de fluorescence « Yellow » de l'instrument RGQ MDx ou avec le filtre de fluorescence B/2 du ABI 7500 Fast Dx, ces amplicons veillent à ce qu'il y ait suffisamment d'échantillon biologique prélevé sur l'écouvillon. Ce contrôle est primordial pour garantir la présence d'échantillons biologiques dans des échantillons négatifs de SARS-CoV-2. Une amplification doit toujours être détectable, sans quoi cela remet en question la qualité même de l'échantillon.

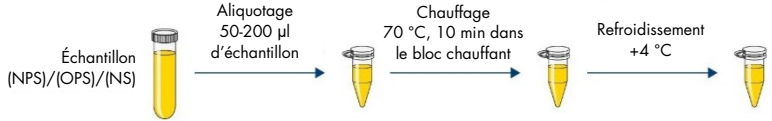
Le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit contient aussi un troisième système d'amplification hétérologue qui permet de révéler une possible inhibition de la RT-PCR. Il est détecté dans un contrôle interne (CI) d'ARN dans le canal de fluorescence « Red » des instruments RGQ MDx et avec le filtre de fluorescence E/5 du ABI 7500 Fast Dx. Le CI étant inclus dans le mélange d'amorces d'amplification SARS-CoV-2 Amp Primers, son amplification doit être constante à moins qu'un inhibiteur de RT-PCR soit présent dans l'échantillon ou dans la réaction de RT-PCR, ce qui retarde ou empêche l'amplification.

Des contrôles positifs et négatifs externes (SARS-CoV-2 Positive Control et eau sans nucléase utilisée comme contrôle sans matrice, respectivement) sont présents dans le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit pour attester des performances de l'étape de PCR. Un contrôle sans extraction (tampon de préparation SARS-CoV-2 UM Prep Buffer utilisé comme contrôle sans extraction) est vivement recommandé pour vérifier l'absence d'inhibiteurs de RT-PCR dans le tampon de préparation.

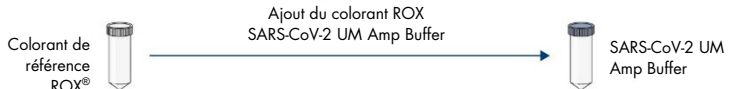
Ces contrôles permettent de surveiller l'efficacité des étapes de transcription inverse et de PCR.

Procédure avec le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit

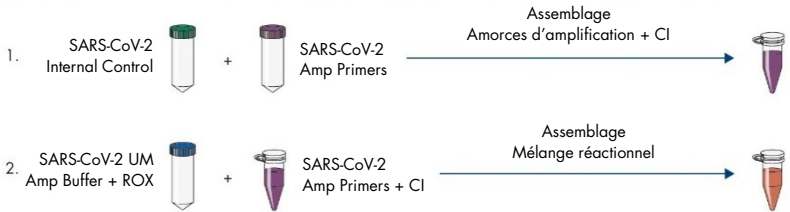
Préparation
du ou des
échantillons



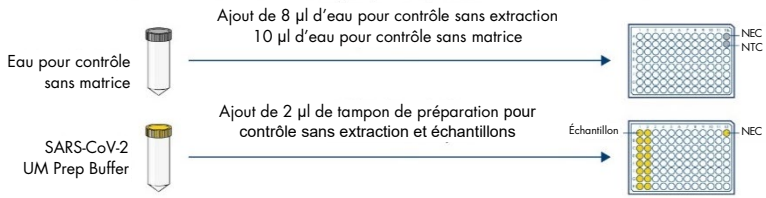
Préparation
du mélange
principal
(première
utilisation
uniquement)



Préparation
du mélange
réactionnel



Configuration
de dosage
1. Tampon de
préparation



(Suite page suivante)

(Suite de la page précédente)

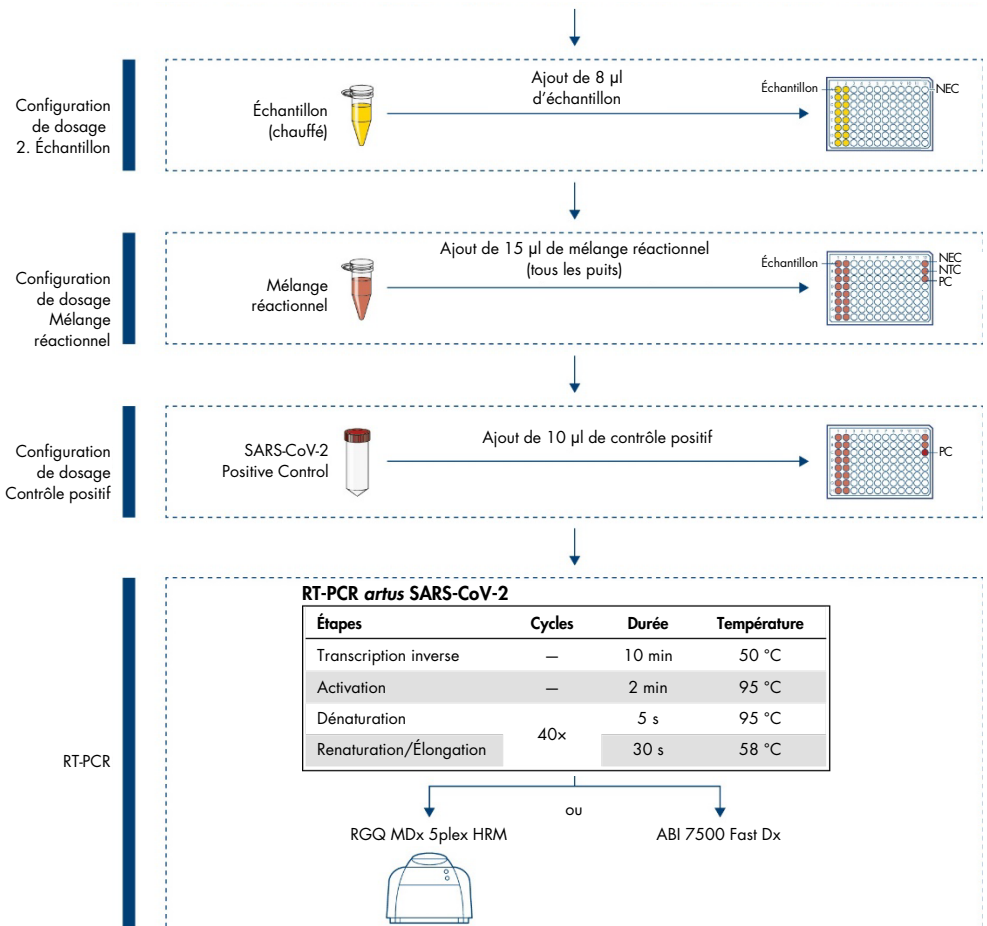


Figure 1 Procédure avec le artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit

Matériel fourni

Contenu du kit

artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit					
N° de référence				4511460	4511469
Nombre de réactions				768	3 072
Couleur de tube	Couleur de bouchon	Désignation	Identifiant du tube	Volume (µl)	Volume (µl)
Transparent	Jaune	SARS-CoV-2 UM Prep Buffer	Preparation Buffer (Tampon de préparation)	2 × 930	8 × 930
Transparent	Bleu	SARS-CoV-2 UM Amp Buffer	Master Mix (Mélange principal)	4 × 1 440	16 × 1 440
Transparent	Violet	SARS-CoV-2 Amp Primers	Primers and Probes (Sondes et amorces)	4 × 1680	16 × 1680
Transparent	Vert	SARS-CoV-2 Internal Control	Internal Control (Contrôle interne) (CI)	1 × 1390	4 × 1390
Transparent	Rouge	SARS-CoV-2 Positive Control	Positive Control (Contrôle positif)	1 × 220	4 × 220
Transparent	Transparent	Water for NTC (Eau pour contrôle sans matrice)	Water (Eau) (NTC)	1 × 1900	4 × 1900
Transparent	Transparent	ROX Reference Dye (Colorant de référence ROX)	ROX Dye (Colorant ROX)	1 × 210	4 × 210

Composants du kit

Réactifs

Dans chaque tube, les volumes de réactif ont été optimisés pour 8 lots de 96 échantillons (pour la trousse de 768 réactions) ou 32 lots de 96 réactions (pour la trousse 3 072 réactions), avec un contrôle positif (CP), un contrôle sans matrice (No Template Control, NTC) et un contrôle sans extraction (No Extraction Control, NEC).

Vous pouvez analyser un nombre d'échantillons plus important ou moins important, mais l'utilisation des réactifs ne sera pas optimale. Il est recommandé d'éviter les cycles de congélation/décongélation à répétition. Pour éviter les cycles de congélation/décongélation à répétition, vous pouvez aliquoter les réactifs.

Sondes et amorces

Les amorces et les sondes ciblant les séquences du SARS-CoV-2 sont basées sur les amorces et les sondes conçues par les Centres de contrôle et de prévention des maladies (Centers for Disease Control and Prevention, CDC).

Contrôles et étalons

Le dosage contient 5 contrôles permettant de surveiller l'efficacité de la RT-PCR.

Contrôle interne (CI) : le contrôle interne est un ARN simple brin obtenu par TIV qui vérifie la présence de contaminants susceptibles d'inhiber la transcription inverse. Le contrôle interne surveille également l'efficacité de la transcription inverse dans le contrôle sans matrice (No Template Control, NTC) et le contrôle sans extraction (No Extraction Control, NEC).

Contrôle sans matrice (No Template Control, NTC) : le contrôle sans matrice est composé d'eau sans nucléase. Il est ajouté à la plaque de PCR pour vérifier l'introduction de contaminants au cours de la préparation de la plaque de PCR, qui pourraient entraîner une interprétation erronée des cibles du SARS-CoV-2.

Contrôle positif (CP) : Le contrôle positif est un ADN double brin amplifié avec les amorces et sondes du SARS-CoV-2 (mélange d'amorces et de sondes). Sa détection permet de vérifier l'efficacité du réactif impliqué dans l'étape d'amplification par PCR.

Contrôle sans extraction (No Extraction Control, NEC) : le contrôle sans extraction est composé du SARS-CoV-2 UM Prep Buffer. Il est traité en parallèle avec les échantillons cliniques pour vérifier l'introduction de contaminants au cours de la préparation des échantillons, qui pourraient entraîner une interprétation erronée des cibles du SARS-CoV-2.

Contrôle d'échantillons : le contrôle d'échantillons détecte le gène RNase P et est primordial pour garantir la présence d'échantillons biologiques dans des échantillons négatifs de SARS-CoV-2. Une amplification du contrôle d'échantillons doit toujours être détectable, sans quoi cela remet en question la qualité même de l'échantillon.

Plates-formes et logiciels

Avant utilisation, assurez-vous que les instruments ont été entretenus et étalonnés conformément aux recommandations du fabricant. Cette trousse peut être utilisée dans deux procédures qui nécessitent l'utilisation du Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM ou du ABI 7500 Fast Dx ainsi que du logiciel correspondant :

- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM : logiciel Rotor-Gene Q version 2.3.1 ou supérieure
- ABI 7500 Fast Dx : logiciel SDS version 1.4.1 ou supérieure

Matériel nécessaire, mais non fourni

Consommables

- Gants à usage unique non poudrés
- Pointes de pipette avec filtres, stériles et sans nucléase
- Tubes non-PCR de 1,5 ml ou 2 ml
- Tubes de PCR de 0,1 ml à utiliser avec le Rotor-Gene® Q MDx (Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, n° de réf. 981103)
- 96-Well MicroAmp™ à utiliser avec la plate-forme de qPCR ABI 7500 Fast Dx (plaque de 96 puits Applied Biosystems, n° de réf. N8010560)
- MicroAmp Optical Adhesive Film à utiliser avec la plate-forme de qPCR ABI 7500 Fast Dx (Applied Biosystems, n° de réf. 4360954)

Équipement*

- Centrifugeuse de paillasse avec rotor pour tubes de réaction de 2 ml
- Pipettes (réglables)
- Agitateur Vortex
- Bloc chauffant
- Rotor-Gene Q MDx 5plex HRM (n° de réf. 9002032) avec le logiciel Rotor-Gene Q version 2.3.1 ou supérieure
- Rotor-Disc 72 Rotor (n° de réf. 9018899)
- Rotor-Disc 72 Locking Ring (n° de réf. 9018900)
- Bloc de chargement à 72 puits (QIAGEN Loading Block 72 x 0.1 ml Tubes, n° de réf. 9018901)
- Éventuellement : plate-forme de qPCR ABI 7500 Fast Dx (Thermo Fisher Scientific®, n° de réf. 4406985) avec le logiciel version 1.4.1 ou supérieure et une centrifugeuse à 96 puits

* Avant utilisation et lorsque c'est nécessaire, assurez-vous que les instruments ont été vérifiés et étalonnés conformément aux recommandations du fabricant.

Avertissements et précautions

Notez qu'il peut être nécessaire de consulter la réglementation locale avant de signaler tout incident grave survenant en lien avec le produit au fabricant et à l'organisme de régulation du pays de l'utilisateur et/ou du patient.

Informations de sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques, porter systématiquement une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Elles sont disponibles en ligne au format PDF à l'adresse www.qiagen.com/safety, où il est possible de trouver, de consulter et d'imprimer les FDS de chaque trousse et composant de trousse QIAGEN.

Veillez à toujours porter un équipement de protection individuelle adapté, notamment des gants à usage unique non poudrés, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection. Protégez la peau, les yeux et les muqueuses. Changez souvent de gants lorsque vous manipulez des échantillons.

Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux. Veillez à toujours respecter les précautions de sécurité définies dans les directives applicables, comme celles du Clinical and Laboratory Standards Institute® (CLSI) concernant la *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline* (Protection des laborantins contre les infections acquises dans un cadre professionnel ; Directives approuvées) (M29) ou les autres documents applicables.

Les prélèvements et les échantillons sont potentiellement infectieux. Éliminez les échantillons et les dosages usagés conformément aux procédures de sécurité locales.

Précautions

- Respectez les procédures de laboratoire standard pour garder l'espace de travail propre et non contaminé. Réservez une zone dotée d'un équipement spécifique pour la manipulation de l'ARN.
- Respectez les bonnes pratiques de laboratoire afin de limiter la contamination croisée.
- Évitez toute contamination avec la RNase au cours de l'expérience et utilisez du matériel en plastique sans RNase.
- Veillez à conserver une bonne traçabilité grâce aux archives, notamment pour l'identification des échantillons.

Stockage et manipulation des réactifs

Prêtez attention aux dates de péremption et aux conditions de stockage imprimées sur l'emballage et toutes les étiquettes des composants. N'utilisez pas de composants périmés ou mal conservés.

Le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit peut être conservé entre -30 °C et -15 °C pendant 6 mois, ou jusqu'à sa date de péremption.

Transport, stockage et manipulation des échantillons

Le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit doit être utilisé avec des échantillons nasopharyngés, nasaux et oropharyngés sur écouvillons. Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux.

Les Centres de contrôle et de prévention des maladies (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) et l'agence Public Health England ont donné des consignes de prélèvement, de manipulation et de test des échantillons cliniques. Consultez ces consignes ou les autres protocoles de laboratoire de référence à l'échelle nationale pour toute information complémentaire.

Prélèvement, transport et stockage des échantillons

Pour le prélèvement, le stockage et le transport des échantillons sur écouvillons, consultez les recommandations du fournisseur. Les écouvillons doivent être entièrement immergés dans un milieu de transport afin de préserver l'intégrité de l'échantillon.

Protocole : préparation des échantillons et détection du SARS-CoV-2 sur le RGQ MDx 5plex HRM

Le présent protocole décrit la préparation des échantillons et de la RT-PCR en vue de détecter les cibles de SARS-CoV-2 dans des échantillons humains nasaux, nasopharyngés ou oropharyngés sur écouvillons conservés dans un milieu de transport sur le RGQ MDx 5plex HRM.

Points importants avant de commencer

- Vérifiez que la date de péremption et les conditions de stockage imprimées sur l'emballage et les étiquettes de tous les composants ont bien été respectées. N'utilisez pas de composants périmés ou mal conservés.
- Utilisez un équipement correctement entretenu et étalonné.
- Évitez toute contamination avec les RNAses au cours de l'expérience et utilisez du matériel en plastique sans nucléase.

À faire avant de commencer

- Vous pouvez conserver les échantillons à température ambiante pendant les étapes de préparation et la préparation de la réaction, mais il est recommandé de les laisser sur un lit de glace ou à 4 °C sur un portoir de refroidissement.
- Avant utilisation, laissez le tampon de préparation SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, le tampon d'amplification SARS-CoV-2 UM Amp Buffer, les amorces d'amplification SARS-CoV-2 Amp Primers, le CI SARS-CoV-2 IC, l'eau pour contrôle sans matrice et le contrôle positif SARS-CoV-2 Positive Control dégeler complètement à température ambiante (15 à 25 °C). Avant utilisation, conservez les tubes à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Avant utilisation, homogénéisez le tampon de préparation SARS-CoV-2 UM Prep Buffer et le tampon d'amplification SARS-CoV-2 UM Amp Buffer en les retournant 2-3 fois (ne les vortexez pas), avant une centrifugation rapide. Tous les autres réactifs peuvent être homogénéisés en les passant au vortex par impulsions 3-5 secondes ou en les retournant 2-3 fois, avant une centrifugation rapide.

- Le SARS-CoV-2 UM Prep Buffer inhibe les RNAses présentes dans les échantillons cliniques pour l'étape de détection mais il ne s'agit pas d'une solution d'inactivation du virus. Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux.
- Vérifiez que les conditions des cycles de la plate-forme de qPCR sont telles que spécifiées dans ce protocole.
- Pour éviter les cycles de congélation/décongélation à répétition, vous pouvez aliquoter les réactifs.
- Préparez au dernier moment le mélange réactionnel (< 2 h avant le lancement de la plaque de RT-PCR).
- Afin de limiter la contamination, les préparations des échantillons et de la RT-PCR doivent être réalisées dans des zones distinctes.

Procédure

1. Préparation des échantillons
 - 1a. Vortexez vigoureusement l'écouvillon contenant l'échantillon.
 - 1b. Aliquotez 50 à 200 µl d'échantillon dans des tubes non PCR de 1,5 ml.
 - 1c. Chauffez à 70 °C pendant 10 minutes sur un bloc chauffant. Faites refroidir les échantillons sur un lit de glace pendant au moins 5 min. puis laissez-les sur la glace ou à 4 °C.
2. À la première utilisation, ajoutez le colorant de référence ROX au SARS-CoV-2 UM Amp Buffer.
 - 2a. Ajoutez 32,8 µl de colorant ROX dans 1 tube de SARS-CoV-2 UM Amp Buffer.
 - 2b. Bouchez le tube contenant le SARS-CoV-2 UM Amp Buffer et le colorant ROX puis retournez-le 3 fois.
 - 2c. Centrifugez le tube de SARS-CoV-2 UM Amp Buffer contenant le colorant ROX déposé au fond du tube.
3. Pour une plaque RGQ MDx pleine (72 puits), préparez un mélange d'aliquote de SARS-CoV-2 Amp Primers avec le SARS-CoV-2 Internal Control.
 - 3a. Transférez les volumes requis d'amorces d'amplification SARS-CoV-2 Amp Primers et de contrôle interne SARS-CoV-2 Internal Control conformément au Tableau 1 dans un nouveau tube non PCR de 1,5 ml.
 - 3b. Bouchez le tube et retournez-le 3 fois ou passez-le au vortex par impulsions pendant 3 à 5 s.
 - 3c. Centrifugez le tube de SARS-CoV-2 Amp Primers contenant le CI déposé au fond du tube.

Tableau 1. Préparation du mélange d'amorces d'amplification SARS-CoV-2 Amp Primers + CI

Mélange de SARS-CoV-2 Amp Primers + CI				Nombre de réactions Volume (µl)	
Réactifs	Concentration du stock	Concentration finale	1 réaction	72 réactions (+22 % de volume supplémentaire*)	
SARS-CoV-2 Amp Primers	3,45x	1x	7,25	638	
SARS-CoV-2 Internal Control	166,67 cp/µl	10 cp/µl	1,5	132	
Mélange total SARS-CoV-2 Amp Primers + CI			8,75	770	

* **Remarque** : ajustez les volumes d'amorces d'amplification SARS-CoV-2 UM Amp Primers et de contrôle interne SARS-CoV-2 Internal Control selon le nombre d'échantillons à tester. Ajoutez éventuellement un volume supplémentaire pour compenser le volume mort.

4. Préparez un mélange réactionnel comme indiqué dans le Tableau 2 puis mélangez bien.

Tableau 2. Préparation du mélange réactionnel

Mélange réactionnel de RT-PCR				Nombre de réactions Volume (µl)	
Réactifs	Concentration du stock	Concentration finale	1 réaction	72 réactions (+20 % de volume supplémentaire*)	
SARS-CoV-2 UM Amp Buffer [†]	4x	1x	6,25	540	
SARS-CoV-2 Amp Primers [‡]	2,9x	1x	8,75	756	
Volume réactionnel total		–	15,00	1 296	

* **Remarque** : ajustez les volumes de tampon d'amplification SARS-CoV-2 UM Amp Buffer et d'amorces d'amplification SARS-CoV-2 Amp Primers selon le nombre d'échantillons à tester. Ajoutez éventuellement un volume supplémentaire pour compenser le volume mort.

[†] SARS-CoV-2 UM Amp Buffer complété par le colorant de référence ROX.

[‡] SARS-CoV-2 Amp Primers complétées par le SARS-CoV-2 Internal Control.

- Ajoutez 8 µl d'eau sans nucléase dans le tube de PCR attribué au contrôle sans extraction.
- Ajoutez 10 µl d'eau sans nucléase dans le tube de PCR attribué au contrôle sans matrice.
- Ajoutez 2 µl de tampon de préparation SARS-CoV-2 UM Prep Buffer dans chaque tube de PCR attribué au contrôle sans extraction et dans les échantillons préparés.
- Ajoutez 8 µl d'échantillon préparé dans un tube de PCR contenant le SARS-CoV-2 UM Prep Buffer. Mélangez la solution par pipetage répété 5 fois.

9. Ajoutez 15 µl du mélange réactionnel préparé à l'étape 4 dans les tubes dédiés aux échantillons et aux contrôles (Figure 2 donnée en exemple). Mélangez la solution par pipetage répété 5 fois puis bouchez les tubes de PCR, excepté celui qui est réservé au SARS-CoV-2 Positive Control.

Remarque : vérifiez que les tubes sont correctement bouchés afin d'éviter toute contamination croisée.

10. Chargez 10 µl de SARS-CoV-2 Positive Control dans le tube de PCR qui convient. Mélangez la solution par pipetage répété 5 fois.

11. Définissez le programme de RT-PCR sur le RGQ MDx 5plex HRM conformément aux indications du Tableau 3.

Remarque : l'acquisition des données doit être réalisée pendant l'étape de renaturation/élongation.

12. Placez les tubes dans le cycleur en temps réel (un exemple de disposition des tubes est présenté sur la Figure 2) puis démarrez le cycle comme décrit dans le Tableau 3.

Remarque : veillez à suivre la position et l'ordre des tubes entre la configuration du dosage et les étapes du cycleur en temps réel.

Tableau 3. Programme SARS-CoV-2 Prep&Amp UM

Étapes	Durée	Température (°C)	Nombre de cycles	Acquisition
Transcription inverse	10 min.	50	1	Non
Activation thermique initiale pour la PCR	2 min.	95	1	Non
Cycle en 2 étapes				
Dénaturation	5 s	95	40	Non
Renaturation/Élongation	30 s	58		Green (FAM), Yellow (HEX) et Red (Atto)

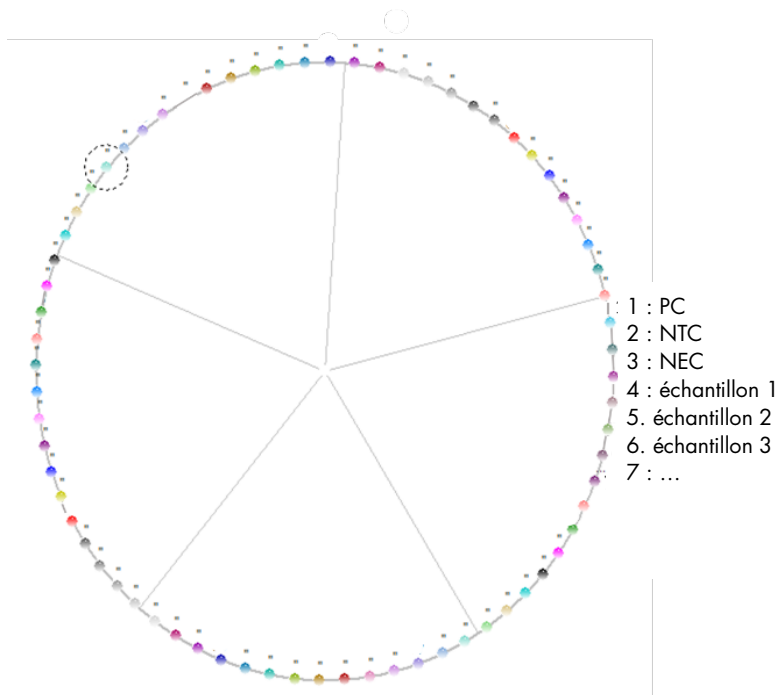


Figure 2. Exemple de disposition des tubes sur la plate-forme RGQ MDx 5plex HRM

13. Cliquez sur **Gain optimization** (Optimisation du gain) dans le « New Run Wizard » (Assistant Nouveau cycle d'exécution) puis ouvrez **Auto-gain Optimization Setup** (Configuration de l'optimisation du gain automatique).

14. Vérifiez que les canaux d'acquisition sont définis comme dans le Tableau 4.

Tableau 4. Configuration du RGQ MDx 5plex HRM

Nom	Position du tube de CP	Valeur min. (FI)	Valeur max. (FI)	Gain min.	Gain max.
Green	1*	5 FI	10 FI	-10	10
Yellow	1*	5 FI	10 FI	-10	10
Red	1*	5 FI	10 FI	-10	10

* **Remarque** : ces valeurs doivent être adaptées en fonction de la position du tube de SARS-CoV-2 Positive Control.

15. Sélectionnez **Perform optimization before the first acquisition** (Effectuer l'optimisation avant la première acquisition).

16. Démarrez le cycle d'exécution.

17. Au terme du cycle d'exécution, analysez les résultats (voir la section Résultats).

Protocole : préparation des échantillons et détection du SARS-CoV-2 sur le ABI 7500 Fast Dx

Ce protocole permet de préparer et détecter les cibles de SARS-CoV-2 dans des échantillons humains nasaux, nasopharyngés ou oropharyngés sur écouvillons conservés dans un milieu de transport sur l'instrument de qPCR ABI 7500 Fast Dx.

Points importants avant de commencer

- Vérifiez que la date de péremption et les conditions de stockage imprimées sur l'emballage et les étiquettes de tous les composants ont bien été respectées. N'utilisez pas de composants périmés ou mal conservés.
- Utilisez un équipement correctement entretenu et étalonné.
- Évitez toute contamination avec les RNAses au cours de l'expérience et utilisez du matériel en plastique sans nucléase.
- Lorsque vous utilisez le ABI 7500 Fast Dx, vous devez ajouter le colorant ROX dans le tube de mélange principal avant la première utilisation.

À faire avant de commencer

- Vous pouvez conserver les échantillons à température ambiante pendant les étapes de préparation et la préparation de la réaction, mais il est recommandé de les laisser sur un lit de glace ou à 4 °C sur un portoir de refroidissement.
- Le colorant ROX est nécessaire lorsque vous utilisez le ABI 7500 Fast Dx.
- **Les données doivent être acquises avec le paramètre de colorant passif ROX.**
- Avant utilisation, laissez le tampon de préparation SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, le tampon d'amplification SARS-CoV-2 UM Amp Buffer, les amorces d'amplification SARS-CoV-2 Amp Primers, le CI SARS-CoV-2 IC, l'eau pour contrôle sans matrice et le contrôle positif SARS-CoV-2 Positive Control décongeler complètement à température ambiante (15 à 25 °C). Avant utilisation, conservez les tubes à température ambiante et à l'abri de la lumière.

- Avant utilisation, homogénéisez le tampon de préparation SARS-CoV-2 UM Prep Buffer et le tampon d'amplification SARS-CoV-2 UM Amp Buffer en les retournant 2-3 fois (ne les vortexez pas), avant une centrifugation rapide. Tous les autres réactifs peuvent être homogénéisés en les passant au vortex par impulsions 3-5 secondes ou en les retournant 2-3 fois, avant une centrifugation rapide.
- Le SARS-CoV-2 UM Prep Buffer inhibe les RNAses présentes dans les échantillons cliniques pour l'étape de détection mais il ne s'agit pas d'une solution d'inactivation du virus. Tous les échantillons doivent être considérés comme potentiellement dangereux.
- Vérifiez que les conditions des cycles de la plate-forme de qPCR sont telles que spécifiées dans ce protocole.
- Pour éviter les cycles de congélation/décongélation à répétition, vous pouvez aliquoter les réactifs.
- Préparez au dernier moment le mélange réactionnel (< 2 h avant le lancement de la plaque de RT-PCR).
- Afin de limiter la contamination, les préparations des échantillons et de la RT-PCR doivent être réalisées dans des zones distinctes.

Procédure

1. Préparation des échantillons
 - 1a. Vortexez vigoureusement l'écouvillon contenant l'échantillon.
 - 1b. Aliquotez 50 à 200 µl d'échantillon dans des tubes non PCR de 1,5 ml.
 - 1c. Chauffez à 70 °C pendant 10 minutes sur un bloc chauffant. Faites refroidir les échantillons sur un lit de glace pendant au moins 5 min. puis laissez-les sur la glace ou à 4 °C.
2. À la première utilisation, ajoutez le colorant de référence ROX au SARS-CoV-2 UM Amp Buffer.
 - 2a. Ajoutez 32,8 µl de colorant ROX dans un tube de SARS-CoV-2 UM Amp Buffer.
 - 2b. Bouchez le tube contenant le SARS-CoV-2 UM Amp Buffer et le colorant ROX puis retournez-le 3 fois.
 - 2c. Centrifugez le tube de SARS-CoV-2 UM Amp Buffer contenant le colorant ROX déposé au fond du tube.
3. Pour une plaque ABI 7500 Fast Dx pleine (96 puits), préparez un mélange d'aliquote de SARS-CoV-2 Amp Primers avec le SARS-CoV-2 Internal Control.

- 3a. Transférez le volume requis de SARS-CoV-2 Amp Primers et de SARS-CoV-2 Internal Control conformément au Tableau 5 dans un nouveau tube non PCR de 1,5 ml.
- 3b. Bouchez le tube et retournez-le 3 fois ou passez-le au vortex par impulsions pendant 3 à 5 s.
- 3c. Centrifugez le tube d'amorces d'amplification SARS-CoV-2 Amp Primers contenant le CI pour que la solution se dépose au fond du tube.

Tableau 5. Préparation du mélange d'amorces d'amplification SARS-CoV-2 Amp Primers + CI

Mélange de SARS-CoV-2 Amp Primers + CI				Nombre de réactions Volume (µl)	
Réactifs	Concentration du stock	Concentration finale	1 réaction	96 réactions (+ 21 % de volume supplémentaire*)	
SARS-CoV-2 Amp Primers	3,45x	1x	7,25	841	
SARS-CoV-2 Internal Control	166,67 cp/µl	10 cp/µl	1,5	174	
Mélange total SARS-CoV-2 Amp Primers + CI			8,75	1 015	

* **Remarque** : ajustez les volumes d'amorces d'amplification SARS-CoV-2 UM Amp Primers et de contrôle interne SARS-CoV-2 Internal Control selon le nombre d'échantillons à tester. Ajoutez éventuellement un volume supplémentaire pour compenser le volume mort.

4. Préparez un mélange réactionnel comme indiqué dans le Tableau 6 puis mélangez bien.

Tableau 6. Préparation du mélange réactionnel

Mélange réactionnel de RT-PCR				Nombre de réactions Volume (µl)	
Réactifs	Concentration du stock	Concentration finale	1 réaction	96 réactions (+20 % de volume supplémentaire*)	
SARS-CoV-2 UM Amp Buffer†	4x	1x	6,25	720	
SARS-CoV-2 Amp Primers‡	2,9x	1x	8,75	1 008	
Volume réactionnel total		–	15,00	1 728	

* **Remarque** : ajustez le volume de SARS-CoV-2 UM Amp Buffer et de SARS-CoV-2 Amp Primers selon le nombre d'échantillons à tester. Ajoutez éventuellement un volume supplémentaire pour compenser le volume mort.

† SARS-CoV-2 UM Amp Buffer complété par le colorant de référence ROX

‡ SARS-CoV-2 Amp Primers complétées par le SARS-CoV-2 Internal Control

5. Ajoutez 8 µl d'eau sans nucléase dans le puits attribué au contrôle sans extraction.

6. Ajoutez 10 µl d'eau sans nucléase dans le puits attribué au contrôle sans matrice.
7. Ajoutez 2 µl de SARS-CoV-2 UM Prep Buffer dans chaque puits attribué au contrôle sans extraction et dans les échantillons préparés.
8. Ajoutez 8 µl d'échantillon préparé dans un puits contenant le SARS-CoV-2 UM Prep Buffer. Mélangez la solution par pipetage répété 5 fois.
9. Ajoutez 15 µl du mélange réactionnel préparé à l'étape 4 dans les puits dédiés aux échantillons et aux contrôles (voir l'exemple de la Figure 3). Mélangez la solution par pipetage répété 5 fois.
10. Chargez 10 µl de SARS-CoV-2 Positive Control dans le puits qui convient. Mélangez la solution par pipetage répété 5 fois.
11. Fermez bien la plaque de PCR pour éviter toute contamination croisée. Veillez à appliquer une pression uniforme sur l'intégralité de la plaque pour assurer une fermeture hermétique de chacun des puits.
12. Centrifugez brièvement la plaque de PCR afin de rassembler le liquide au fond du puits.
13. Définissez le programme de RT-PCR en mode d'exécution « Standard 7500 » sur le ABI 7500 Fast Dx conformément au Tableau 7.
Remarque : l'acquisition des données doit être réalisée pendant l'étape de renaturation/élongation.
Remarque : consultez le *mode d'emploi du ABI 7500 Fast Dx* pour plus de détails.
14. Placez la plaque dans le cycleur en temps réel (un exemple de disposition des plaques de PCR est présenté sur la Figure 3) puis démarrez le cycle comme décrit dans le Tableau 7.
15. Sélectionnez les puits utilisés et appliquez les rapporteurs FAM, VIC et Cy5. Les données doivent être acquises avec le colorant passif ROX sur **ON** (Activé).
16. Vérifiez que la courbe étalon du ABI 7500 Fast Dx est configurée sur Quantification absolue.
17. Démarrez le cycle d'exécution.
18. Au terme du cycle d'exécution, analysez les résultats (voir la section Résultats).

Tableau 7. Programme SARS-CoV-2 Prep&Amp UM

Étapes	Durée	Température (°C)	Nombre de cycles	Acquisition
Transcription inverse	10 min.	50	1	Non
Activation thermique initiale pour la PCR	2 min.	95	1	Non
Cycle en 2 étapes				
Dénaturation	5 s	95	40	Non
Renaturation/Élongation	30 s	58		Green (FAM), Yellow (VIC) et Red (Cy5)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	PC											
B	NTC											
C	NEC											
D	Sample 1											
E	Sample 2											
F	Sample 3											
G	...											
H												

Figure 3. Exemple de disposition des plaques sur le ABI 7500 Fast Dx

Résultats

Sur le RGQ MDx 5plex HRM, les données sont analysées à l'aide du logiciel Rotor-Gene Q version 2.3.1 (ou supérieure) conformément aux consignes du fabricant (Manuel d'utilisation Rotor-Gene Q MDx, révision 7, septembre 2018). Les paramètres d'analyse suivants sont nécessaires pour assurer la cohérence entre les différentes analyses (Tableau 8).

Tableau 8. Paramètres d'analyse pour le RGQ MDx 5plex HRM

Canaux	Green	Red	Yellow
Seuil de fluorescence	0,03	0,03	0,03
Correction de la pente	Oui	Oui	Oui
Tube dynamique	Oui	Oui	Oui
Point de hausse	Non	10-20	10-20
Suppression des valeurs aberrantes : Seuil d'efficacité de la réaction	Oui 0 % activé	Non	Non
Cycles de démarrage écourtés	5	5	5
Cycles de seuil	Un Ct > 38,00 est considéré comme 40,00	Non	Un Ct > 35,00 est considéré comme 40,00

Dans le logiciel RGQ, les résultats du cycle d'exécution apparaissent dans la grille des résultats de quantification qui s'ouvre en cours d'analyse. Les données de certains échantillons sont répertoriées dans le tableau, elles peuvent être exportées dans un fichier Excel® en faisant un clic droit sur la grille puis en sélectionnant **Export to Excel** (Exporter vers Excel). Veuillez à sélectionner tous les échantillons avant d'exporter les résultats.

Sur le ABI, les données sont analysées à l'aide du logiciel 7500 Fast System version 1.4.1 (ou supérieure) conformément aux consignes du fabricant. Les paramètres suivants sont nécessaires pour assurer la cohérence entre les différentes analyses (Tableau 9).

Tableau 9. Paramètres d'analyse pour le ABI 7500 Fast Dx

Canaux	FAM*	VIC/HEX*	Cy5/Atto*
Colorant passif	ROX	ROX	ROX
Seuil de fluorescence	0,13	0,05	0,025
Valeur de référence	Auto	Auto	Auto
Cycles de seuil	Un Ct > 39,00 est considéré comme 40,00	Non	Un Ct > 35,00 est considéré comme 40,00

* FAM = filtre A/1 sur la plate-forme ABI, VIC/HEX = filtre B/2 sur la plate-forme ABI, Cy5/Atto = filtre E/5 sur la plate-forme ABI

Dans le logiciel ABI SDS, les valeurs de Ct d'un groupe sélectionné de puits ou de la plaque entière figurent dans la feuille **Report** (Rapport) de la section principale **Results** (Résultats). Vous pouvez exporter les données au format CSV (fichier .csv) (recommandé) : dans la fenêtre du logiciel SDS, sélectionnez **File** (Fichier) > **Export** (Exporter) > **Results** (Résultats) (l'élément de menu **Ct** peut également être sélectionné). Sélectionnez le format du fichier exporté .csv.

Interprétation des résultats

Le contrôle positif (CP), les gènes N1 et N2 sont détectés dans le canal de fluorescence Green avec le RGQ MDx 5plex HRM (ou dans le canal de fluorescence FAM sur le ABI).

Le contrôle d'échantillons, composé de la RNase P, est détecté dans le canal de fluorescence Yellow avec le RGQ MDx 5plex HRM (ou dans la fluorescence VIC/HEX avec le ABI). Chaque échantillon clinique doit afficher une amplification du contrôle d'échantillons. Dans le CP, une amplification jaune peut être observée malgré l'absence de séquences humaines. Dans ce cas, un signal dans le canal jaune du CP peut être ignoré car le signal de fluorescence intense dans le canal vert peut atteindre le canal jaune.

Le contrôle interne (CI) est inclus aux SARS-CoV-2 Amp Primers. Il est détecté dans le contrôle sans matrice (No Template Control, NTC), le contrôle sans extraction (No Extraction Control, NEC), le contrôle positif (CP) et les échantillons cliniques avec le canal de fluorescence Red sur le RGQ MDx 5plex HRM (ou dans le canal de fluorescence Cy5/Atto avec le ABI).

Pour valider les cycles d'exécution de RT-PCR, les contrôles de CP, de NTC et de NEC doivent être amplifiés et détectés comme prévu.

Tableau 10. Critères de validité du cycle d'exécution et interprétation des résultats pour le RGQ MDx 5plex HRM

Contrôle	Détection dans le canal Green	Détection dans le canal Yellow	Détection dans le canal Red	Interprétation
Contrôle positif (PC)	Ct ≤ 38,00	Indifférent	Indifférent	Le cycle d'exécution est validé.
	Ct > 38,00 ou aucun Ct	Indifférent	Indifférent	Le cycle d'exécution n'est pas validé.
Contrôle sans matrice (NTC) ou Contrôle sans extraction (NEC)	Ct > 38,00 ou aucun Ct	Ct > 35,00 ou aucun Ct	Oui	Le cycle d'exécution est validé.
	Toute autre combinaison avec amplification sur le canal vert ou jaune		Indifférent	Le cycle d'exécution n'est pas validé.

Tableau 11. Critères de validité du cycle d'exécution et interprétation des résultats pour le ABI 7500 Fast Dx

Contrôle	Détection dans le colorant FAM*	Détection dans le colorant VIC/HEX*	Détection dans le colorant Cy5/Atto*	Interprétation
Contrôle positif (PC)	Ct ≤ 39,00	Indifférent	Indifférent	Le cycle d'exécution est validé.
	Ct > 39,00 ou aucun Ct	Indifférent	Indifférent	Le cycle d'exécution n'est pas validé.
Contrôle sans matrice (NTC) ou	Ct > 39,00 ou aucun Ct	Ct > 35,00 ou aucun Ct	Oui	Le cycle d'exécution est validé.
Contrôle sans extraction (NEC)	Toute autre combinaison avec amplification sur FAM ou VIC/HEX		Indifférent	Le cycle d'exécution n'est pas validé.

* FAM = filtre A/1 sur la plate-forme ABI, VIC/HEX = filtre B/2 sur la plate-forme ABI, Cy5/Atto = filtre E/5 sur la plate-forme ABI

Pour valider les échantillons testés, les échantillons doivent être amplifiés et détectés comme prévu.

Tableau 12. Critères de validité de l'échantillon et interprétation des résultats pour le RGQ MDx 5plex HRM

Détection dans le canal Green	Détection dans le canal Yellow	Détection dans le canal Red	Interprétation
Ct ≤ 38,00	Indifférent	Indifférent	L'échantillon est positif pour l'ARN du SARS-CoV-2.
Ct > 38,00 ou aucun Ct	Ct ≤ 35,00	Indifférent	L'échantillon est négatif, l'ARN du SARS-CoV-2 n'est pas détecté.
Ct > 38,00 ou aucun Ct	Ct > 35,00 ou aucun Ct	Oui	Échantillon non valide. Matériel humain inexistant ou insuffisant détecté. Nouvel échantillon requis.
Ct > 38,00 ou aucun Ct	Ct > 35,00 ou aucun Ct	Non	Échantillon non valide. La réaction de RT-qPCR est inhibée. Nouveau test requis.

Tableau 13. Critères de validité de l'échantillon et interprétation des résultats pour le ABI 7500 Fast Dx

Détection dans le colorant FAM*	Détection dans le colorant VIC/HEX*	Détection dans le colorant Cy5/Atto*	Interprétation
Ct ≤ 39,00	Indifférent	Indifférent	L'échantillon est positif.
Ct > 39,00 ou aucun Ct	Ct ≤ 35,00	Indifférent	L'échantillon est négatif, le SARS-CoV-2 n'est pas détecté.
Ct > 39,00 ou aucun Ct	Ct > 35,00 ou aucun Ct	Oui	Échantillon non valide. Aucun matériel humain détecté. Nouvel échantillon requis.
Ct > 39,00 ou aucun Ct	Ct > 35,00 ou aucun Ct	Non	Échantillon non valide. La réaction de RT-qPCR est inhibée. Nouveau test requis.

* FAM = filtre A/1 sur la plate-forme ABI, VIC/HEX = filtre B/2 sur la plate-forme ABI, Cy5/Atto = filtre E/5 sur la plate-forme ABI

Limitations

- Pour utilisation diagnostique *in vitro* uniquement.
- Les résultats du *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit ne doivent pas être le seul élément sur lequel se fondent le diagnostic, le traitement ou les autres décisions de prise en charge du patient. Des résultats négatifs n'écartent pas pour autant une infection au SARS-CoV-2 et les décisions de prise en charge du patient ne doivent en aucun cas être fondées sur ce seul élément.
- L'utilisation de ce produit est réservée à un personnel spécialement formé aux procédures de diagnostic *in vitro*.
- Pour des résultats de PCR optimaux, il convient de respecter scrupuleusement le manuel d'utilisation de la plate-forme de qPCR (Rotor-Gene Q 5-plex HRM MDx ou ABI 7500 Fast Dx).
- Il convient de porter une attention particulière aux dates de péremption imprimées sur l'emballage et les étiquettes de tous les composants. N'utilisez pas de composants périmés.

Performances

Sensibilité analytique (Limite de détection)

La sensibilité analytique, ou limite de détection, est la concentration la plus faible à laquelle $\geq 95\%$ des échantillons testés génèrent un résultat positif.

La limite de détection a été évaluée en analysant des dilutions en série d'échantillons nasopharyngés négatifs sur écouvillons préparés avec des stocks de titre élevé de particules virales inactivées obtenues auprès de fournisseurs professionnels (ZeptoMetrix®). Pour confirmer la concentration de la limite de détection établie, le taux de détection de tous les réplicats doit être $\geq 95\%$ (au moins 19/20 réplicats doivent générer un signal positif). La concentration de la limite de détection a été déterminée sur les deux plates-formes de qPCR présentées, mais la limite de détection la plus basse des deux procédures est privilégiée. La concentration de la limite de détection a été déterminée sur les deux plateformes de real-time PCR avec deux différents lots de réactifs.

La limite de détection privilégiée pour les deux plateformes de real-time PCR pour le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit est de 950 cp/ml.

Études de spécificité analytique (inclusivité et exclusivité/réactivité croisée)

Inclusivité

L'inclusivité des amorces et sondes d'amplification *artus* SARS-CoV-2 Amp Primers and Probes a été évaluée avec une analyse *in silico* sur des séquences de la base de données GISAID (www.gisaid.org). Un total de 722 488 séquences (disponibles au 23/03/2021) ont été analysées sur le COVID CG (<https://covidcg.org>), alimenté par les métadonnées de GISAID. Les séquences ont été alignées sur la séquence de référence WIV04 (100 % identique à Wuhan-Hu-1/NC_045512.2, sauf pour la longueur de la queue de polyadénylation [poly-A]) et les variations d'un seul nucléotide (Single Nucleotide Variation, SNV) ont été analysées dans la région du génome ciblée par les amorces et sondes du *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit. La prévalence des SNV identifiées est restée en deçà de 1 %, de même que la fréquence des mutations co-existantes. Il n'existait aucune SNV sur les derniers 1 à 3 nucléotides à partir de l'extrémité 3' dans les oligonucléotides correspondants, ce qui aurait eu un impact sur les performances. Le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit est considéré comme fiable pour détecter 100 % des séquences représentées.

Exclusivité/Réactivité croisée

Analyse *in silico*

L'exclusivité des amorces et sondes d'amplification *artus* SARS-CoV-2 Amp Primers and Probes a été évaluée avec une analyse *in silico* sur des séquences de la banque de données NCBI. L'analyse *in silico* a démontré que certains des agents pathogènes testés avaient plus de 80 % d'homologie avec l'une des amorces ou sondes *artus* SARS-CoV-2. Parmi eux, on trouve *Candida albicans*, SARS-CoV-1, *Streptococcus pyogenes* et *Streptococcus salivarius*. *Pseudomonas aeruginosa* présentait moins de 80 % d'homologie avec l'une des amorces/sondes du dosage SARS-CoV-2. Néanmoins, les amorces et sondes d'amplification *artus* SARS-CoV-2 Amp Primers and Probes n'ont démontré aucune possible amplification avec les différentes séquences de la base de données nr/nt NCBI.

Au total, 36 souches bactériennes, virales et fongiques ont été analysées par PCR *in silico* avec une taille d'amplicon potentiel limitée à 500 pb. Les séquences d'agents pathogènes ont été collectées dans la base de données NCBI, mais aucun de ces agents pathogènes n'a montré d'amplification *in silico*.

Tableau 14. Liste des agents pathogènes testés *in silico*.

Agents pathogènes	Souche/Type	ID de taxonomie	Résultats PCR <i>in silico</i>
<i>Adénovirus de type 3</i>	Type 3	45659	Pas de correspondance
<i>Adénovirus de type 4</i>	Type 4	28280	Pas de correspondance
<i>Adénovirus de type 5</i>	Type 5	28285	Pas de correspondance
<i>Adénovirus de type 7A</i>	Type 7A	85755	Pas de correspondance
<i>Adénovirus de type 14</i>	Type 14	10521	Pas de correspondance
<i>Adénovirus de type 31</i>	Type 31	10529	Pas de correspondance
<i>Bordetella pertussis</i>	A639	520	Pas de correspondance
<i>Candida albicans</i>	Z006 SC5314	5476	Pas d'amplification possible*†
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	CWL-029 TW-183	115713	Pas de correspondance
Entérovirus	Type 68	42789	Pas de correspondance

* La correspondance de la séquence avec l'une des amorces/sondes a montré < 80 % d'homologie.

† La correspondance de la séquence avec l'une des amorces/sondes a montré ≥ 80 % d'homologie.

(Suite page suivante)

Tableau 14 (Suite de la page précédente)

Agents pathogènes	Souche/Type	ID de taxonomie	Résultats PCR <i>in silico</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	KW20	727	Pas de correspondance
Coronavirus humain	229E	11137	Pas de correspondance
Coronavirus humain	NL63	277944	Pas de correspondance
Coronavirus humain	HKU-1	290028	Pas de correspondance
Coronavirus humain OC43	OC43	31631	Pas de correspondance
Coronavirus humain	MERS-CoV	1335626	Pas de correspondance
Métapneumovirus humain	S/O	162145	Pas de correspondance
Influenza A	H1N1	114727	Pas de correspondance
Influenza A	H3N2	119210	Pas de correspondance
Influenza B	S/O	11520	Pas de correspondance
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	M129 FH	272634	Pas de correspondance
Virus parainfluenza	Type 1	12730	Pas de correspondance
Virus parainfluenza	Type 2	2560525	Pas de correspondance
Virus parainfluenza	Type 3	11216	Pas de correspondance
Virus parainfluenza	Type 4	2560526	Pas de correspondance
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	RU7	42068	Pas de correspondance
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PAO1	287	Pas d'amplification possible*
Virus respiratoire syncytial	Type A (RSV-A)	208893	Pas de correspondance
Virus respiratoire syncytial	Type B (RSV-B)	208895	Pas de correspondance
Rhinovirus	Type A	147711	Pas de correspondance
Rhinovirus	Type B	147712	Pas de correspondance
SARS-CoV	Tor2	694009	Pas d'amplification possible [†]
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	S/O	1282	Pas de correspondance
<i>Streptococcus pyogenes</i>	S/O	1314	Pas d'amplification possible [†]
<i>Streptococcus salivarius</i>	ATCC® BAA-1024D-5 CCHSS3	1304	Pas d'amplification possible [†]
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 700669 NCTC11032	1313	Pas de correspondance

* La correspondance de la séquence avec l'une des amorces/sondes a montré < 80 % d'homologie.

[†] La correspondance de la séquence avec l'une des amorces/sondes a montré ≥ 80 % d'homologie.

Analyse *in vitro*

La réactivité croisée avec les agents pathogènes affichant une homologie de $\geq 80\%$ avec les amorces d'amplification SARS-CoV-2 Amp Primers dans l'analyse *in silico* a été vérifiée *in vitro*. Les échantillons ont été préparés en ajoutant des organismes réactifs croisés potentiels dans une matrice d'échantillons nasopharyngés sur écouvillons à 10^6 cp/ml, sauf pour le SARS-CoV-1 qui a été testé non dilué conformément aux recommandations du fournisseur. Aucun de ces agents pathogènes n'a montré de réactivité croisée *in vitro*.

Les interférences microbiennes du dosage *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit ont été évaluées *in vitro* sur un panel d'agents pathogènes recommandés. Les échantillons ont été préparés en ajoutant au maximum 5 agents pathogènes - à 105 TCID50/ml pour les cibles virales, 10^6 cp/ml pour les cibles bactériennes et fongiques ou à la concentration maximale possible en fonction de la concentration du stock - dans des échantillons nasopharyngés sur écouvillons négatifs additionnés de particules de SARS-CoV-2 inactivées à $2,87 \times$ la limite de détection (Zeptomatrix). Les NATrol™ Panels et le SARS-CoV-1 ont été directement additionnés de particules virales de SARS-CoV-2 inactivées (Zeptomatrix) à $2,87 \times$ la limite de détection. Les résultats de chaque pool de micro-organismes testés et les concentrations correspondantes sont résumés ci-dessous.

Tableau 15. Liste d'agents pathogènes testés *in vitro* dans les interférences microbiennes.

ID du pool/de l'échantillon	Micro-organisme	Source	Concentration finale	Unité	Résultat
Pool 1	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,72E+03	cp/ml	Pas d'interférence
	Coronavirus humain 229E	Zeptomatrix (0810229CFHI)	1,43E+05	TCID50/ml	
	Coronavirus humain OC43	Zeptomatrix (0810024CFHI)	5,86E+04	TCID50/ml	
	Coronavirus humain NL63	Zeptomatrix (0810228CFHI)	2,84E+04	TCID50/ml	
	Adénovirus T3	Zeptomatrix (0810016CFHI)	1,43E+05	TCID50/ml	
	Virus parainfluenza 1	Zeptomatrix (0810014CFHI)	9,14E+06	TCID50/ml	
Pool 2	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,72E+03	cp/ml	Pas d'interférence
	Adénovirus T31	Zeptomatrix (0810073CFHI)	1,67E+04	TCID50/ml	
	Virus parainfluenza 2	Zeptomatrix (0810015CFHI)	4,29E+04	TCID50/ml	
	Influenza B Florida/02/2006	Zeptomatrix (0810037CFHI)	1,43E+05	TCID50/ml	
	Rhinovirus T 1A	Zeptomatrix (0810012CFNHI)	2,86E+04	TCID50/ml	

(Suite page suivante)

Tableau 15 (Suite de la page précédente)

ID du pool/de l'échantillon	Micro-organisme	Source	Concentration finale	Unité	Résultat
Pool 3	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,72E+03	cp/ml	Pas d'interférence
	Virus parainfluenza T3	Zeptomatrix (0810016CFHI)	1,43E+07	TCID50/ml	
	<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC (51907D-5)	1,00E+06	UFC/ml	
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC (700669DQ)	3,30E+06	UFC/ml	
	<i>Candida albicans</i>	Zeptomatrix (0801504DNA)	1,00E+06	UFC/ml	
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	ATCC (12228DQ)	4,60E+06	UFC/ml	
Pool 4	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	cp/ml	Pas d'interférence
	Adénovirus T7A	Zeptomatrix (0810021CFHI)	1,02E+06	TCID50/ml	
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC (700294DQ)	1,00E+07	UFC/ml	
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Zeptomatrix (0801579DNA)	1,00E+08	UFC/ml	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC (47085DQ)	1,00E+07	UFC/ml	
Pool 5	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,72E+03	cp/ml	Pas d'interférence
	Virus respiratoire syncytial RSVA	Zeptomatrix (0810482CFHI)	7,14E+04	TCID50/ml	
	Influenza A H1N1 Californie	Zeptomatrix (0810165CFHI)	1,43E+04	TCID50/ml	
	Entérovirus type 68 groupe principal	Zeptomatrix (0810300CFHI)	1,43E+05	TCID50/ml	
	Adénovirus T14	Zeptomatrix (0810108CFHI)	2,86E+04	TCID50/ml	
Pool 6	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	cp/ml	Pas d'interférence
	MERS-CoV	Zeptomatrix (0810575CFHI)	1,43E+04	TCID50/ml	
	Adénovirus T4	Zeptomatrix (0810070CFHI)	1,43E+05	TCID50/ml	
	Métapneumovirus humain (hMPV) type B	Zeptomatrix (0810156CFHI)	7,14E+03	TCID50/ml	
	Virus respiratoire syncytial type B (RSV-B)	Zeptomatrix (0810040CFHI)	1,43E+03	TCID50/ml	

(Suite page suivante)

Tableau 15 (Suite de la page précédente)

ID du pool/de l'échantillon	Micro-organisme	Source	Concentration finale	Unité	Résultat
Pool 7	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	cp/ml	Pas d'interférence
	Adénovirus T5	Zeptomatrix (0810020CFHI)	6,43E+05	TCID50/ml	
	Virus parainfluenza 4B	Zeptomatrix (0810060BCFHI)	7,14E+04	TCID50/ml	
	Influenza A H3N2 Suisse/9715293/13	Zeptomatrix (0810511CFHI)	2,86E+04	TCID50/ml	
	<i>Streptococcus salivarius</i>	Zeptomatrix (BAA-1024D-5)	1,00E+06	UFC/ml	
Pool 8	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	cp/ml	Pas d'interférence
	NATrol Panel RP1 (Influenza A H3N2 Brisbane/10/07), Influenza A H1N1 (NY/02/2009), Rhinovirus (Type 1A), Adénovirus T3, Parainfluenza T1, Virus parainfluenza T4, Métapneumovirus (Pérou 6-2003) <i>C. pneumoniae</i> (CWL-029), <i>M. pneumoniae</i> (M129), Virus Coxsackie (Type A1)	Zeptomatrix (MDZ001)	Inconnu*	S/O	
Pool 9	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	cp/ml	Pas d'interférence
	NATrol Panel RP2 (Influenza A H1 Nouvelle-Calédonie/20/99), Influenza B (Floride/02/06), RSV-A, Parainfluenza T2, Parainfluenza T3, Coronavirus HKU recombinant, Coronavirus (OC43, NL63, 229E), <i>Bordetella pertussis</i> (A639)	Zeptomatrix (MDZ001)	Inconnu*	S/O	
Pool 10	SARS-CoV-2	Zeptomatrix (NATSARS(COV2)-ERC)	2,73E+03	cp/ml	Pas d'interférence
	SARS-CoV-1	Zeptomatrix (NATSARS-ST)	Inconnu*	S/O	

* Concentration non communiquée par le fournisseur.

Substances interférentes

L'effet de substances interférentes supposées (pour les substances répertoriées dans le Tableau 16) a été évalué sur les performances du *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit. Les tests ont été réalisés sur 3 pools d'échantillons nasopharyngés sur écouvillons négatifs et 3 pools d'échantillons nasopharyngés sur écouvillons positifs additionnés de particules virales de SARS-CoV-2 inactivées à 4 x la limite de détection (Zeptomatrix). Les expériences ont été effectuées sur la plate-forme RGQ MDx 5plex HRM (sur 4 instruments) par 1 opérateur avec 1 trousse pilote.

Chaque pool a été scindé en 2 pour tester la substance interférente dissoute dans un solvant (échantillon de test) ou le solvant seul (échantillon de contrôle). Les taux de détection dans les canaux de fluorescence vert et rouge ont été comparés entre le test et ses échantillons de contrôle correspondants. En l'absence d'interférence, le test et ses échantillons de contrôle correspondants présentent le même taux de détection.

Le Tableau 16 indique qu'aucune des substances testées n'a interféré avec les performances du *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit dans le canal de fluorescence vert.

Tableau 16. Liste de substances interférentes.

Substances interférentes	Fonction	Concentration testée	Résultats des échantillons nasopharyngés sur écouvillons négatifs	Résultats des échantillons nasopharyngés sur écouvillons positifs (4 x LoD)
Tobramycine	Antibiotique à action générale	1 mg/ml	Pas d'interférence 0/15	Pas d'interférence 0/15
Mupirocine	Pommade nasale antibiotique	6,6 mg/ml	Pas d'interférence 0/15	Pas d'interférence 0/15
Fluticasone	Corticostéroïde nasal	5 % (V/V)	Pas d'interférence 0/15	Pas d'interférence 0/15
Menthol (Pastilles pour la gorge)	Anesthésique et analgésique oral	0,5 mg/ml	Pas d'interférence 0/15	Pas d'interférence 0/15

(Suite page suivante)

Tableau 16. (Suite de la page précédente)

Substances interférentes	Fonction	Concentration testée	Résultats des échantillons nasopharyngés sur écouvillons négatifs	Résultats des échantillons nasopharyngés sur écouvillons positifs (4 x LoD)
Oxymétazoline	Spray nasal	10% (V/V)	Pas d'interférence (0/15)	Pas d'interférence (0/15)
Oséltamivir	Antiviral	3,3 mg/ml	Pas d'interférence (0/15)	Pas d'interférence (0/15)
Mucine (glande sous-maxillaire bovine type I-5)		2,5 mg/ml	Pas d'interférence (0/15)	Pas d'interférence (0/15)
Sang total		4% (V/V)	Pas d'interférence (1/15*)	Pas d'interférence (0/15)

* Une amplification correspondant à un artefact a été détectée.

Précision

L'étude de précision a évalué la reproductibilité (le même échantillon est répété dans différents cycles d'exécution et conditions : 5 jours, 3 lots de trousse, 3 opérateurs et 2 instruments) et la répétabilité (le même échantillon est répété dans les mêmes cycles d'exécution et conditions). Les tests ont été effectués sur des échantillons nasopharyngés sur écouvillons négatifs et des échantillons nasopharyngés sur écouvillons négatifs avec 5 x la limite de détection sur le RGQ MDx.

Pour chaque niveau de dilution, 204 points de données ont été collectés. Les données de répétabilité et de reproductibilité ont été utilisées pour déterminer l'écart-type (ET) et le coefficient de variation (%CV) des cibles du SARS-CoV-2 dans les canaux vert, jaune et rouge. Le Tableau 17 indique que le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit présente une précision globale de 0,63 ET (2,03 % CV) dans le canal vert, 0,54 ET (2,22 % CV) dans le jaune et 1,28 ET (4,10 % CV) dans le rouge.

Tableau 17. Écart-type et coefficient de variation du *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit

Échantillons et canal de détection	Total	D'un jour à l'autre	D'un lot à l'autre	D'un opérateur à l'autre	D'un instrument à l'autre	D'un cycle d'exécution à l'autre	Au sein d'un cycle d'exécution
Écart-type (ET) (Coefficient de variation [%CV])							
NPS négatif Canal Yellow	0,54 (2,22)	0,09 (0,37)	0,10 (0,42)	0,06 (0,27)	0,11 (0,47)	0,09 (0,36)	0,50 (2,05)
NPS négatif Canal Red	1,15 (3,68)	0,0 (0,00)	0,55 (1,76)	0,00 (0,00)	0,12 (0,40)	0,39 (1,26)	0,92 (2,96)
NPS additionné Canal Green	0,63 (2,03)	0,18 (0,59)	0,31 (1,00)	0,00 (0,00)	0,08 (0,25)	0,00 (0,00)	0,51 (1,64)
NPS additionné Canal Yellow	0,47 (1,93)	0,13 (0,53)	0,24 (0,98)	0,05 (0,20)	0,18 (0,73)	0,00 (0,00)	0,33 (1,38)
NPS additionné Canal Red	1,28 (4,10)	0,12 (0,37)	0,58 (1,84)	0,11 (0,34)	0,00 (0,00)	0,49 (1,57)	1,02 (3,27)

Performances cliniques

Les performances cliniques du dosage *artus* SARS-CoV-2 UM Prep&Amp ont été évaluées à l'aide d'échantillons rétrospectifs nasopharyngés sur écouvillons dans un milieu de transport, composés de :

- 98 échantillons négatifs à l'ARN de SARS-CoV-2
- 52 échantillons positifs à l'ARN de SARS-CoV-2

Tous les échantillons ont été prélevés sur des patients montrant des signes et symptômes d'une infection au COVID-19 et ont été congelés avant utilisation.

La validation clinique a été effectuée sur le ABI 7500 Fast Dx. Le Tableau 18 indique la performance du *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit par rapport à une méthode de référence, exprimée comme un pourcentage de concordance positive (Positive Percent Agreement, PPA) et un pourcentage de concordance négative (Negative Percent Agreement, NPA).

Tableau 18. Performances cliniques du artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit par rapport à une méthode de référence

Type d'échantillon	N	% positifs	IC à 95 %	% négatifs	IC à 95 %
Positif	52	98,1 (51/52)	89,9 – 99,7	5,1 (5/98)	
Négatif	98	1,9 (1/52)		94,9 (93/98)	88,7 – 97,8

Les résultats discordants ont été évalués par une méthode tierce puis réanalysés avec un tableau de contingence. Les résultats de performances cliniques globales sont exprimés en pourcentage de concordance positive (Positive Percent Agreement, PPA) et en pourcentage de concordance négative (Negative Percent Agreement, NPA) et figurent dans le Tableau 19.

Tableau 19. Performances cliniques du artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit

Type d'échantillon	N	% positifs	IC à 95 %	% négatifs	IC à 95 %
Positif	52	98,1 (51/52)	89,9 – 99,7	5,1 (5/98)	
Négatif	98	1,9 (1/52)		94,9 (93/98)	88,7 – 97,8

Ci-dessous figurent la fraction d'échantillons concordants et le pourcentage de concordance positive et négative (PPA et NPA, respectivement) avec les statuts d'échantillons attendus :

Pourcentage de concordance positive

(Positive Percent Agreement, PPA%) : $51/52 = 98,1\%$ (95 % IC : 89,9 % - 99,7 %)

Pourcentage de concordance négative

(Negative Percent Agreement, NPA%) : $93/98 = 94,9\%$ (95 % IC : 88,6% - 97,8%)

Performances cliniques, y compris les personnes asymptomatiques

Les performances cliniques du dosage *artus* SARS-CoV-2 UM Prep&Amp ont été évaluées à l'aide d'échantillons rétrospectifs nasopharyngés sur écouvillons dans un milieu de transport, composés de :

- 100 échantillons négatifs à l'ARN de SARS-CoV-2
- 53 échantillons positifs à l'ARN de SARS-CoV-2

Tous les échantillons ont été prélevés sur des patients sans symptômes ni d'autres raisons de suspecter une infection par COVID-19.

La validation clinique a été effectuée sur le ABI 7500 Fast Dx. Seize échantillons ont été exclus de l'analyse après le test avec le *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit en raison d'un statut non valide d'après les critères de validité de l'échantillon (Tableau 13).

Le Tableau 20 présente les performances du *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit par rapport à une méthode de référence, exprimée comme pourcentage de concordance positive (Positive Percent Agreement, PPA) et pourcentage de concordance négative (Negative Percent Agreement, NPA).

Tableau 20. Performances cliniques du *artus* SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit par rapport à une méthode de référence

Type d'échantillon	N	% positifs	IC à 95 %	% négatifs	IC à 95 %
Positif	50	64,0 (32/50)	50,1 – 75,9	1,15 (1/87)	–
Négatif	87	36,0 (18/50)	–	98,85 (86/87)	93,8 – 99,8

Dix-neuf résultats discordants ont été évalués par une méthode tierce puis réanalysés avec un tableau de contingence. Les résultats de performances cliniques globales sont exprimés en pourcentage de concordance positive (Positive Percent Agreement, PPA) et en pourcentage de concordance négative (Negative Percent Agreement, NPA) et figurent dans le Tableau 21.

Tableau 21. Performances cliniques du artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit

Type d'échantillon	N	% positifs	IC à 95 %	% négatifs	IC à 95 %
Positif	32	100,0 (32/32)	89,3 – 100,0	0,95 (1/105)	-
Négatif	105	-	-	99,05 (104/105)	94,8 – 99,8

Dix-huit échantillons faux négatifs ont été reclassés comme de vrais négatifs, alors que le seul faux positif est resté un faux positif.

Ci-dessous figurent la fraction d'échantillons concordants et le pourcentage de concordance positive et négative (PPA et NPA, respectivement) avec les statuts d'échantillons attendus :

Pourcentage de concordance positive

(Positive Percent Agreement, PPA) : $32/32 = 100,0\%$ (95 % IC : 89,3% - 100,0%)

Pourcentage de concordance négative

(Negative Percent Agreement, NPA) : $104/105 = 99,05\%$ (95 % IC : 94,8% - 99,8%)

Références

1. CUI J *et al.* (2019) Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol* **17**, 181-192
2. Gagneur *et al.* (2002) Infections nosocomiales à coronavirus humains chez le nouveau-né. *Arch Pédiatr* **9**, 61-69
3. HU *et al.* (2020) Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol* **6**:1-14.
4. Mackay IM. (2004) Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin Microbiol. Infect* **10**(3), 190–212
5. European Commission. (2020) Current performance of COVID-19 test methods and devices and proposed performance criteria. 16 April 2020. <https://ec.europa.eu/docsroom/documents/40805/attachments/1/translations/en/renditions/native>

Guide de dépannage

Ce guide de dépannage peut vous aider à résoudre les problèmes éventuels. Pour plus d'informations, consultez également la page de la foire aux questions (Frequently Asked Questions, FAQ) dans notre Centre d'assistance technique sur : www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx.

Commentaires et suggestions

Signal vert faible ou inexistant (FAM) dans le contrôle positif (CP)

- | | |
|--|--|
| a) Le canal de fluorescence sélectionné pour l'analyse des données de RT-PCR n'est pas conforme au protocole. | Pour l'analyse des données, sélectionnez le canal de fluorescence FAM (vert) pour les cibles analytiques de RT-PCR de SARS-CoV-2, le HEX/VIC/JOE (jaune) pour le contrôle d'échantillons et le Cy5/Atto (rouge) pour le contrôle interne. |
| b) Programmation incorrecte du profil de température. | Comparez le programme de RT-PCR avec le protocole. |
| c) Configuration incorrecte de la réaction de PCR. | Vérifiez les étapes de la procédure à l'aide du schéma de pipetage puis recommencez la PCR si nécessaire. |
| d) Les conditions de stockage d'un ou plusieurs composants de la trousse ne respectaient pas les consignes, ou le <i>artus</i> SARS-CoV-2 RT-PCR Kit a expiré. | Respectez les conditions de stockage puis vérifiez la date de péremption des réactifs et utilisez une nouvelle trousse si nécessaire. |
| e) Configuration incorrecte de la plateforme de qPCR lors de la configuration des données. | Appliquez les configurations recommandées pour votre plate-forme de qPCR, décrites dans le présent manuel. |
| f) Il y a eu inhibition de la PCR. | Respectez les bonnes pratiques de laboratoire de biologie moléculaire afin de ne pas introduire de contaminants. Assurez-vous que la surface de travail et les instruments sont décontaminés régulièrement. Respectez le protocole figurant dans le présent manuel. Vérifiez la date de péremption du réactif et utilisez une nouvelle trousse si nécessaire. Répétez le dosage avec un autre échantillon. |

Signal vert (FAM) dans le contrôle sans matrice ou le contrôle sans extraction

Contamination avec les séquences de SARS-CoV-2 au cours de la préparation de la plaque de RT-PCR.

Répétez la RT-PCR avec de nouveaux réactifs. Respectez les bonnes pratiques de laboratoire de biologie moléculaire afin de ne pas introduire de contaminants. Respectez le protocole figurant dans le présent manuel. Assurez-vous que la surface de travail et les instruments sont décontaminés régulièrement.

Commentaires et suggestions

Signal rouge faible ou inexistant (Cy5/Atto) du contrôle interne














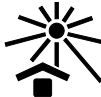

- a) Une substance interférente a été introduite dans la réaction de RT-PCR. La PCR est inhibée.
- Respectez les bonnes pratiques de laboratoire de biologie moléculaire afin de ne pas introduire de contaminants.
- Assurez-vous que la surface de travail et les instruments sont décontaminés régulièrement.
- Respectez le protocole figurant dans le présent manuel.
- Répétez l'expérience avec un échantillon fraîchement prélevé.
- b) Le contrôle interne est dégradé.
- Respectez les bonnes pratiques de laboratoire de biologie moléculaire afin de ne pas introduire de RNAses. Respectez les recommandations figurant dans le présent manuel.
- Assurez-vous que la surface de travail et les instruments sont décontaminés régulièrement.
- Respectez les conditions de stockage puis vérifiez la date de péremption des réactifs et utilisez une nouvelle trousse si nécessaire.
- c) Configuration incorrecte de la plateforme de qPCR lors de la configuration des données.
- Appliquez les configurations recommandées pour votre plateforme de qPCR, décrites dans le présent manuel.

Signal jaune faible ou inexistant (VIC/HEX) du contrôle d'échantillons

- a) L'échantillon clinique est dégradé.
- Suivez les recommandations du fournisseur du dispositif de prélèvement en matière de stockage, manipulation et transport.
- Respectez le protocole figurant dans le présent manuel, y compris les étapes de préparation des échantillons avec le SARS-CoV-2 UM Prep Buffer.
- Respectez les conditions de stockage puis vérifiez la date de péremption des réactifs, notamment le SARS-CoV-2 UM Prep Buffer, et utilisez une nouvelle trousse si nécessaire.
- b) L'échantillon n'a pas été prélevé correctement. Pas suffisamment de cellules humaines prélevées sur l'écouvillon ou transférées dans le milieu de transport.
- Suivez les recommandations du fournisseur du dispositif de prélèvement en matière de prélèvement et de manipulation des échantillons.
- c) Configuration incorrecte de la plateforme de qPCR lors de la configuration des données.
- Appliquez les configurations pour votre plateforme de qPCR, décrites dans le présent manuel.

Symboles

Les symboles suivants peuvent figurer dans le mode d'emploi ou sur l'emballage et les étiquettes :

Symbole	Définition du symbole
	Contient suffisamment de réactifs pour 768 ou 3 072 réactions
	À utiliser avant
	Dispositif médical de diagnostic in vitro
	Numéro de référence
	Numéro de lot
	Composants
	Contient
	Nombre
	Code article international (Global Trade Item Number, GTIN)
	R désigne une révision du mode d'emploi et n représente le numéro de révision
	Limites de température
	Fabricant
	Consulter le mode d'emploi
	Conserver à l'abri des rayons du soleil
	Avertissement/mise en garde

Coordonnées

Pour bénéficier d'une assistance technique et obtenir plus d'informations, contactez les services techniques QIAGEN sur **support.qiagen.com**.

Informations pour commander

Produit	Contenu	N° de réf.
<i>artus</i> SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit (768)	Pour 768 réactions : tampon de préparation, colorant ROX, mélange principal, amorces et sondes, contrôle interne, eau (NTC) et contrôle positif	4511460
<i>artus</i> SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit (3072)	Pour 3 072 réactions : tampon de préparation, colorant ROX, mélange principal, amorces et sondes, contrôle interne, eau (NTC) et contrôle positif	4511469
Instrument et accessoires		
PCR Tubes, 0.1 ml pour Rotor-Gene Q 5-plex HRM MDx	À utiliser avec le 72-Well Rotor, les tubes en barrettes avec bouchon	981103
Logiciel Rotor-Gene Q	Logiciel Rotor-Gene Q v2.3.1 (ou supérieure)	
Rotor-Gene Q 5-plex HRM MDx	Cycleur de Real-time PCR à 5 canaux, analyseur de fusion haute résolution, logiciel, ordinateur portable et accessoires ; 1 an de garantie pièces, main-d'œuvre et installation	9002032
Loading Block	72 × tubes de 0,1 ml	9018901

Pour les dernières informations sur les licences et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consultez le manuel de la trousse ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des kits et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des services techniques QIAGEN ou de votre distributeur local.

Historique des révisions du document

Révision	Description
R1, avril 2021	Première version.
R2, juillet 2021	<p>Extension de revendication : le test a été établi pour les personnes asymptomatiques. Utilisation prévue a été mis à jour pour inclure les personnes sans symptômes ni d'autres raisons de suspecter une infection par COVID-19. La section sur la Performances cliniques, y compris les personnes asymptomatiques a été ajoutée aux données de Performances.</p> <p>La suppression de la déclaration « Les performances de ce test n'ont pas été établies pour des patients sans aucun signe ni symptôme d'infection respiratoire » à la section Limitations.</p> <p>Modifications éditoriales et de format mineures.</p>

Accord de licence limitée pour le artus SARS-CoV-2 Prep&Amp UM Kit

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. Le produit doit être utilisé uniquement avec les composants du panel, conformément aux protocoles fournis avec le produit et à ce manuel. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce panel avec tout autre composant non fourni dans ce panel, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, dans ce manuel et dans d'autres protocoles disponibles sur le site www.qiagen.com. Parmi ces protocoles supplémentaires, certains ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour des utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne saurait être tenue pour responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
2. En dehors des licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce panel et/ou sa ou ses utilisations ne violent pas les droits de tiers.
3. Ce panel et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAGEN rejette notamment toutes les autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du panel consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre, de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions de cet Accord de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrer tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de cet Accord de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au panel et/ou à ses composants.

Pour consulter les mises à jour de la licence, voir le site www.qiagen.com.

Marques commerciales : QIAGEN®, Sample to Insight®, artus®, Rotor-Gene® (Groupe QIAGEN) ; ATCC® (American Type Culture Collection) ; Clinical and Laboratory Standards Institute®, CLSI® (Clinical and Laboratory Standards Institute, Inc) ; Zepmetrix®, NATrol™ (Cole-Parmer) ; Excel® (Microsoft Corporation) ; ABI®, MicroAmp™, Thermo Fisher Scientific® (Thermo Fisher Scientific ou ses filiales). Les noms déposés, les marques de commerce, etc., cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

07/2021 R2 HB-2850-002 © 2021 QIAGEN, tous droits réservés.

Pour commander www.qiagen.com/shop | Assistance technique support.qiagen.com |
Site Web www.qiagen.com