

FR

Notice utilisateur

ViroQ SARS-CoV-2

Trousse de test pour la détection qualitative de l'ARN du SARS-CoV-2

Pour la notice utilisateur électronique voir www.bag-diagnostics.com



RÉF 728250 ViroQ SARS-CoV-2 96 Tests

RÉF 728251 ViroQ SARS-CoV-2 480 Tests

Pour utilisation avec		
Types d'échantillons	Trousses d'extraction d'ARN / instruments d'extraction automatisés	Instruments pour PCR en temps réel
Frottis nasopharyngé (NP)	QIAGEN Trousse pour ARN viral QIAamp Viral RNA Mini Kit	Bio-Rad Système de détection par PCR en temps réel CFX96 Touch™
Frottis oropharyngé (OP)	QIAGEN Trousse pour ARN viral QIAamp Viral RNA Mini QIAcube Kit / QIAcube	
Frottis nasal	QIAGEN Trousse pour virus / pathogène QIASymphony DSP Virus / Pathogen Mini Kit / QIASymphony SP	Roche LightCycler® 480 System II
Frottis nasal antérieur	Roche Trousse pour ADN et AN viral MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit / instrument MagNA Pure 96 de Roche	Applied Biosystems Système pour PCR en temps réel QuantStudio™ 6 Flex 96 cupules rapide, ordinateur portable

Remarque spéciale : Une compensation de couleurs ou un étalonnage de couleurs est nécessaire pour certains thermocycleurs. Veuillez contrôler la liste continuellement mise à jour sur notre site Web à travers le bouton « **Cycler Settings** » : <https://www.bag-diagnostics.com/en/sars-cov-2-en.html>

Les modifications apportées à la version 3/2020 sont marquées en jaune.

Version 4/2020 / État : 2020-09

Table des matières

1. UTILISATION PRÉVUE	3
2. DESCRIPTION DU PRODUIT	3
3. PRINCIPE DU TEST	3
4. MATÉRIEL	3
4.1 Contenu de la trousse ViroQ SARS-CoV-2	3
4.2 Réactifs et dispositifs supplémentaires nécessaires	4
4.3 Thermocycleurs et tubes de réaction validés	5
5. STOCKAGE ET STABILITÉ.....	6
6. PROCÉDURE DE TEST	6
6.1 Précautions et remarques spéciales	6
6.2 Isolement de l'ARN	6
6.3 Préparation des réactifs	7
6.4 Amplification	7
6.5 Interprétation des résultats.....	8
7. CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE SPÉCIFIQUES.....	10
7.1 Limite de détection.....	10
7.2 Évaluation clinique de la sensibilité et spécificité diagnostique	10
7.3 Réactivité croisée.....	11
8. AVERTISSEMENTS ET MESURES DE PRÉCAUTION	12
9. LIMITES DE LA MÉTHODE	13
10. CONTRÔLE DE QUALITÉ INTERNE	13
11. DÉPANNAGE	14
12. MARQUES COMMERCIALES UTILISÉES DANS CE DOCUMENT/PRODUIT	14
13. EXPLICATION DES SYMBOLES UTILISÉS SUR LES ÉTIQUETTES	15
14. BIBLIOGRAPHIE	15

1. UTILISATION PRÉVUE

La trousse ViroQ SARS-CoV-2 est utilisée pour la détection qualitative de l'ARN du Sars-CoV-2 dans des échantillons provenant des voies respiratoires tels que frottis nasopharyngé (NP), oropharyngé (OP), nasal, nasal antérieur et du cornet nasal moyen, au moyen d'une transcription inverse d'ARN suivi d'une amplification dans le PCR en temps réel. Le test est effectué par un personnel qualifié dans des laboratoires spécialisés.

2. DESCRIPTION DU PRODUIT

La trousse ViroQ SARS-CoV-2 est utilisée pour la détection in vitro de l'ARN du Sars-CoV-2 dans des échantillons provenant des voies respiratoires tels que frottis nasopharyngé (NP), oropharyngé (OP), nasal, nasal antérieur et du cornet nasal moyen. La trousse est basée sur une réaction monotope dans la technologie PCR en temps réel. Avec son efficace synthèse d'ADNc à partir d'ARN, en combinaison avec un PCD en temps réel, la trousse ViroQ SARS-CoV-2 offre la possibilité de réaliser le test dans un tube de réaction. La trousse contient des amorces et de sondes fluorescentes pour l'amplification et la détection de fragments de gènes du Sars-CoV-2. Elle contient en outre un contrôle interne pour assurer que le prélèvement d'échantillon a été réalisé correctement et que l'amplification s'est déroulée avec succès.

3. PRINCIPE DU TEST

Le test est réalisé avec de l'ARN comme matériel de départ. L'ARN est converti en ADNc à l'aide d'une transcriptase inverse, puis amplifié par PCR. Les amorces ont été développées spécialement pour l'amplification sélective d'ADNc transcrit des gènes RdRP et E du virus (gène RdRP : Protocole de l'institut Pasteur : Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2 ; gène E : Corman et al. 2020). Les amplicons sont aussi détectés au moyen de sondes d'hydrolyse marquées par fluorescence (sondes TaqMan[®]) spécifiques au SARS-CoV-2.

Lorsque des amplicons sont présents, les sondes sont hydrolysées par la Taq polymérase et génèrent un signal de fluorescence proportionnel à la quantité du produit de PCR. Les signaux de fluorescence sont mesurés par l'unité de détection optique du thermocycleur pour PCR en temps réel.

Le test est réalisé en une seule réaction de PCR, dans laquelle les deux gènes RdRP et E du virus ainsi qu'un gène humain (RNase P) exprimé universellement sont détectés par des couleurs fluorescentes différentes. La détection du gène RNase P garantit le prélèvement d'échantillon correct, l'isolement de l'ARN et l'amplification par RT-PCR.

4. MATÉRIEL

4.1 Contenu de la trousse ViroQ SARS-CoV-2

- **ViroQ|ENZYME** ViroQ Enzyme, enzyme lyophilisé, contient la transcriptase inverse, la Taq polymérase et les dNTP
- **ViroQ|SOLV** ViroQ Solvent, solvant prêt à l'emploi, contient le tampon de reconstitution pour l'enzyme ViroQ

- **ViroQ|MIX** **ViroQ Mix**, mélange prêt à l'emploi, contient les amorces, les sondes et le tampon de stockage
- **CONTROL|+** **ViroQ Pos Ctrl**, contrôle positif, séché, contient de l'ARN humain, de l'ARN de référence pour le virus
- **IFU or eIFU** **Notice utilisateur ou notice utilisateur électronique**

4.2 Réactifs et dispositifs supplémentaires nécessaires

- Réactifs pour l'isolement de l'ARN (voir les trousse d'isolement d'ARN validés au chapitre 6.2)
- Thermocycleur en temps réel (voir les thermocycleurs validés au chapitre 4.3)
- Tubes de réaction pour PCR en temps réel avec couvercle ou film (voir les produits validés au chapitre 4.3)
- Eau sans RNase
- Pipettes à piston (0,5 – 1000 µl) et embouts
- Trousse de compensation de couleurs pour le LightCycler® 480 I+II, 2.0 (RÉF 728258 ViroQ CC Light Cycler®, mis à disposition par BAG Diagnostics)
- Trousse d'étalonnage de couleurs pour QuantStudio, StepOne, ABI 7500, ViiA7 (RÉF 728260 RT CC Universal Applied Biosystems® mis à disposition par BAG Diagnostics)

4.3 Thermocycleurs et tubes de réaction validés

Thermocycleur	Tubes de réaction	Systèmes de fermeture
Système de détection par PCR en temps réel CFX96 Touch™ Société Bio-Rad	Plaque pour PCR FrameStar® Break-A-Way, profil bas, 96 cupules blanches, cadre noir réf. 4ti-1201 Société 4titude / Brooks Life Sciences	Crystal Strips™ réf. 4ti-0755/120 Société 4titude / Brooks Life Sciences
	Plaques pour PCR Hard-Shell® 96 cupules, profil bas, paroi fine, à jupe, blanc/blanc, réf. HSP9655 Société Bio-Rad	Barrettes de 8 capuchons pour tubes pour PCR à fond plat de 0.2 ml, optiques, ultra-transparentes, réf. TCS0803 Société Bio-Rad
	Plaque à 96 cupules pour LightCycler® 480, blanche réf. 04729692001 Société Roche	Sceau pour qPCR réf. 4ti-0560 Société 4titude / Brooks Life Sciences
Système pour PCR en temps réel QuantStudio™ 6 Flex à 96 cupules rapide, ordinateur portable Société Applied Biosystems	Barrettes à 8 cupules pour tubes pour PCR Vari-Strip™ réf. 4ti-0753 Société 4titude / Brooks Life Sciences	Crystal Strips™ réf. 4ti-0755/120 Société 4titude / Brooks Life Sciences
	Plaque pour PCR FrameStar® 96 cupules, à demi-jupe, de type ABI® FastPlate, cupules blanches, cadre transparent réf. 4ti-0911 Société 4titude / Brooks Life Sciences	Sceau pour qPCR, réf. 4ti-0560 Société 4titude / Brooks Life Sciences

Remarque spéciale : Si d'autres thermocycleurs en temps réel, tubes de réaction et systèmes de fermeture sont utilisés, ceux-ci doivent être validés par l'utilisateur.

5. STOCKAGE ET STABILITÉ

Les trousse sont expédiées à température ambiante. Après réception, tous les réactifs doivent être stockés à $\leq -20^{\circ}\text{C}$ dans des dispositifs à température contrôlée. La date d'expiration est indiquée sur l'étiquette des réactifs. La date d'expiration indiquée sur l'étiquette extérieure concerne le réactif avec la durée de vie la plus courte. Les réactifs ViroQ Enzyme et ViroQ Solvent peuvent être stockés à température ambiante jusqu'à la fin de leur durée de vie, tant que le lyophilisat n'a pas été dilué avec le tampon de reconstitution. Après dilution, sa durée de vie est de 12 mois.

Les congélations et décongélations répétées de réactifs déjà décongelés (plus de deux fois) doivent être évitées, la performance des tests pourrait en être affectée. En cas d'utilisation intermittente, les réactifs devraient être aliquotés.

6. PROCÉDURE DE TEST

6.1 Précautions et remarques spéciales

Les techniques de la génétique moléculaire sont des procédures particulièrement sensibles et ne devraient être effectuées que par un personnel spécialisé qualifié avec de l'expérience dans les techniques de la génétique moléculaire.

Des précautions spéciales doivent être prises pour éviter des contaminations et les fausses réactions qui en découleraient :

- ◆ travailler par principe avec des gants (sans poudre si possible)
- ◆ utiliser de nouveaux embouts (avec insert filtrant ou sceau intégré) à chaque étape de pipetage
- ◆ utiliser deux zones de travail séparées pour la pré-amplification (préparation des réactions) et la post-amplification (détection) ; si possible utiliser deux salles séparées
- ◆ utiliser les dispositifs et autres matériaux uniquement aux postes de travail respectifs et ne pas les échanger.

6.2 Isolement de l'ARN

Les échantillons pour l'isolement de l'ARN doivent être envoyés dans des systèmes de prélèvement d'échantillon appropriés. Suivre les instructions de l'OMS à l'adresse suivante <https://www.who.int/csr/sars/sampling/en/> pour un prélèvement d'échantillon correct. Il est recommandé d'utiliser $\text{C}\text{€}$ des trousse certifiées \square IVD pour l'isolement de l'ARN.

Trousses d'isolement d'ARN validées :

Manuel

- Trousse pour ARN viral QIAamp Viral RNA Mini Kit de QIAGEN

Automatisé

- Trousse pour ARN viral QIAamp[®] Viral RNA Mini QIAcube Kit de QIAGEN
- Trousse QIASymphony[®] DSP Virus/Pathogen Mini Kit de QIAGEN
- Trousse pour ADN et AN viral MagNA Pure 96 DNA and Viral NA Small Volume Kit de Roche

Si la méthode standard établie du laboratoire est utilisée pour l'isolement de l'ARN, et que celle-ci ne correspond pas aux troussees validées indiquées ci-dessus, l'utilisateur doit la valider.

6.3 Préparation des réactifs

ViroQ Enzyme

Le mélange d'enzymes ViroQ Enzyme est lyophilisé et doit être dissout avant l'emploi dans 400 µl de ViroQ Solvent par aspiration/éjection répétée avec une pipette.

ViroQ Pos Ctrl

Le contrôle positif ViroQ Pos Ctrl est séché et doit être dissout dans 30 µl d'eau sans RNase par aspiration/éjection répétée avec une pipette, être laissé réhydrater complétement pendant 15 minutes puis mélangé de nouveau par tourbillonnage.

6.4 Amplification

Les tubes de réaction recommandés par le fabricant du thermocycleur en temps réel ou les matériels recommandés au chapitre 4.3 devraient être utilisés.

Pour chaque échantillon, pipetter les réactifs suivants dans un tube de réaction :

- 4 µl ViroQ Enzyme
- 2 µl ViroQ Mix (amorces et sondes)
- 5 µl* Échantillon d'ARN
- 9 µl Eau sans RNase

*Si la concentration de copies de virus attendue est très faible, le volume d'échantillon peut être augmenté en réduisant simultanément la quantité d'eau.

Le volume de réaction pour chaque test par PCR en temps réel est de 20 µl.

Lorsque le mélange de ViroQ Enzyme, ViroQ Mix et d'eau sans RNase est préparé pour plusieurs échantillons, prévoir une quantité supplémentaire appropriée pour les pertes par pipetage.

Pour préparer le **contrôle positif (PTC)**, une réaction PCR est préparée, et l'échantillon d'ARN est remplacé par le contrôle ViroQ Pos Ctrl. Pour préparer un **contrôle négatif (NTC)**, l'ARN est remplacé par de l'eau.

Fermer les tubes de réaction et s'assurer que le liquide se trouve sur le fond du tube. S'assurer que les tubes de réaction ne contiennent aucune bulle. Si des bulles sont présentes, tapoter doucement les tubes de réaction sur la paillasse pour éliminer les bulles.

Lancer le programme de PCR avec les paramètres suivants :

Étape	Temps	Température	Nombre de cycles
Transcription inverse	20 min	48 °C	1 cycle
Activation de la polymérase	3 min	95°C	1 cycle

Dénaturation	15 sec	95°C	45 cycles
Hybridation + extension	30 sec + lecture	58°C	

Les thermocycleurs en temps réel ont été validés pour la trousse ViroQ SARS-CoV-2 :

Biorad :	Système de détection par PCR en temps réel CFX96 Touch™
Roche :	LightCycler® 480 System II
Applied Biosystems :	Système pour PCR en temps réel QuantStudio™ 6 Flex à 96 cupules rapide, ordinateur portable

Remarque spéciale :

Si d'autres thermocycleurs en temps réel sont utilisés, ceux-ci doivent être validés par l'utilisateur.

6.5 Interprétation des résultats

L'évaluation des résultats de test pour des échantillons cliniques devrait être effectuée une fois que les contrôles positif et négatif ont été examinés et jugés valables et acceptables. Si les contrôles ne sont pas valables, les résultats de patient ne peuvent pas être interprétés.

Une valeur limite de Ct est utilisée pour définir les réactions positives pour les trois réactions dans le mélange pour PCR multiplexe. Si la valeur Ct n'est pas clairement définie, il peut s'avérer utile de vérifier les courbes de fluorescence.

Tous les tests, excepté le contrôle négatif (NTC), doivent présenter un signal de fluorescence dans le canal rouge avec le contrôle interne. Des échantillons positifs de SARS-CoV-2 doivent présenter un signal positif dans le canal FAM (gène RdRP) ou dans les deux canaux FAM et CFO560 / HEX / VIC / JOE (gène E). Le contrôle positif doit présenter dans chaque canal un signal d'amplification situé dans les valeurs limites de Ct définies.

Canal	Spécificité
FAM	SARS-CoV-2 / gène RdRP (ARN Polymérase dépendante de l'ARN)
CFO560 / HEX / VIC / JOE	Beta-CoV / gene E (Sarbeco, Enveloppe)
CFR610 / Texas Red / ROX	Contrôle de cellules / RNase P

Les signaux d'amplification pour les échantillons négatifs de SARS-CoV-2 doivent se situer en dehors des valeurs limites de Ct pour les deux canaux (vert et orange).

Le NTC est utilisé comme un contrôle de contamination. Lorsque de l'ARN ou un amplificateur contaminé a été ajouté accidentellement, un signal positif devient visible dans le NTC. Une valeur de Ct inférieure à 35 devrait être considérée comme une indication d'une contamination possible. Des signaux d'amplification supérieurs à Ct 35 dans le NTC peuvent être causés par des objets PCR et peuvent, compte tenu de la fluorescence finale (RFU) et de la forme de la courbe d'amplification, être ignorés (voir ci-dessous pour l'interprétation des résultats entre Ct 35 et Ct 45).

Lorsqu'une contamination est suspectée, il est recommandé de suivre les directives locales en matière de décontamination et de remplacer les réactifs.

Pour des résultats valables, toutes les valeurs de Ct ≤ 35 sont considérées positives (voir le tableau ci-dessous).

	Canal	Niveau de Ct	Contrôler	Longueur d'onde en nm
Contrôle de cellule	Rouge (CFR610)	$\leq 35^*$	>35-45**	Excitation : 590 Émission : 610
Gène RdRP du virus	Vert (FAM)	≤ 35	>35-45	Excitation : 495 Émission : 520
Gène E du virus	Orange (CFO560)	≤ 35	>35-45	Excitation : 538 Émission : 559

* Une concentration élevée en ARN de SARS-CoV-2 dans l'échantillon peut entraîner une réduction ou une absence de signaux de contrôle de cellule.

** La défaillance de ce contrôle signifie : une concentration insuffisante en matériau cellulaire humain. prélèvement ou envoi d'échantillon incorrect.

Indépendamment de la valeur Ct, une réaction positive devrait montrer une courbe d'amplification sigmoïde et une fluorescence (RFU) finale suffisante. La RFU dépend du thermocycleur – la RFU finale du contrôle positif peut être utilisée comme valeur indicative pour la RFU finale normale dans un thermocycleur défini. Le contrôle positif peut aussi être utilisé comme exemple pour la forme sigmoïde correcte de la courbe d'amplification. En raison de cela, des résultats avec une valeur Ct supérieure à 35 et une RFU finale faible devraient être contrôlés quant à la forme sigmoïde de la courbe d'amplification et à la plausibilité de la réaction. Des échantillons avec un résultat équivoque devraient être répétés et interprétés dans le contexte de l'évolution clinique chez le patient. En cas de questions concernant l'ajustement du seuil ou des valeurs limites de Ct, veuillez vous adresser au service de BAG Diagnostics (téléphone +49 (0) 6404 925125, adresse électronique : info@bag-diagnostics.com) ou à ses représentants.

Le tableau suivant présente l'interprétation des résultats de l'amplification :

FAM Gène RdRP	CFO560 Gène E	CFR610 Contrôle de cellule	Résultat
+	+	+*	ARN spécifique du SARS-CoV-2 détecté.
+	-	+*	ARN spécifique du SARS-CoV-2 détecté.
-	+	+*	ARN spécifique du Beta-CoV détecté. Répéter le test avec le même ou un nouvel échantillon.
-	-	+	Aucune détection d'ARN spécifique du SARS-CoV-2. L'échantillon ne contient pas de quantités détectables ou suffisantes de copies (LoD) de l'ARN spécifique.
-	-	-**	Résultat invalide en raison d'inhibition de la PCR en temps réel ou de défaillance des réactifs. Répéter l'isolement de l'ARN et / ou le test avec l'échantillon original.

* Une concentration élevée en ARN de SARS-CoV-2 dans l'échantillon peut entraîner une réduction ou une absence de signaux de contrôle de cellule.

** La défaillance de ce contrôle signifie : une concentration insuffisante en matériau cellulaire humain. Prélèvement, stockage ou envoi d'échantillon incorrect.

7. CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE SPÉCIFIQUES

La combinaison d'amorces et de sondes garantit une identification fiable d'ARN spécifique au SARS-CoV-2. La précision et la reproductibilité de la spécificité de la trousse de test sont contrôlées pour chaque charge au moyen d'échantillons de référence pré-typés.

7.1 Limite de détection

La limite de détection (LoD) définit la concentration la plus faible en ARN de SARS-CoV-2 ayant une probabilité de 95 % ou plus d'être détectée avec succès. La LoD a été déterminée au moyen de cinq dilutions différentes d'un ARN viral de référence, le test pour chaque dilution ayant été répété 20 fois respectivement. Selon ce protocole, la sensibilité analytique du test par RT-PCR ViroQ-SARS-CoV-2 est de **5 copies/20 µl de mélange de réaction** pour les deux gènes cible (RdRP, gène E) avec le système LightCycler® 480 II.

7.2 Évaluation clinique de la sensibilité et spécificité diagnostique

Une étude d'évaluation de performance avec 371 échantillons d'ARN pré-typés a été effectuée pour la trousse ViroQ SARS-CoV-2. Les résultats de l'étude ont été comparés aux résultats obtenus dans un laboratoire clinique lors de tests de routine avec des trousse de test d'un autre fabricant. Des discrédances dans les résultats ont pu être éliminées par l'utilisation d'un troisième test et par plusieurs répétitions de tests. L'évaluation définitive des résultats pour un échantillon a été utilisée pour le calcul de la spécificité et sensibilité diagnostique du test.

Spécificité diagnostique 99,7 %
Sensibilité diagnostique 100 %

		ViroQ SARS-CoV-2	
		Positif	Négatif
Évaluation finale	Positif	37	0
	Négatif	1*	333

* communication personnelle du laboratoire clinique établissant le rapport : réaction faible avec Ct tardif pour cet échantillon, cependant négatif, en raison d'informations cliniques supplémentaires !

7.3 Réactivité croisée

La réactivité croisée des amorces avec d'autres virus et bactéries respiratoires a été contrôlée avec des échantillons positifs connus par l'institut Pasteur (Paris) et par Corman et al. 2020. Aucun des organismes testés n'a montré de réactivité.

Pour démontrer la spécificité analytique et l'exclusivité de la trousse ViroQ SARS CoV-2, un panneau de contrôle, contenant 22 pathogènes respiratoires (particules de virus et cellules bactériennes intactes), a été utilisé. De l'ARN a été extrait pour chacun des pools contenus dans le panneau (voir tableau ci-dessous) et testé avec la trousse ViroQ SARS-CoV-2. Une réactivité avec le gène RdRP ou le gène E n'a pu être détectée pour aucun des pools.

Panneau de contrôle respiratoire					
	Pool 1	Pool 2	Pool 3	Pool 4	Pool 5
Adenovirus Type 3	✓				
Coronavirus OC43	✓				
Human Metapneumovirus (Peru6-2003)**	✓				
Adenovirus Type 2	✓				
<i>B. pertussis</i> (A639)	✓				
Coronavirus NL63		✓			
Bocavirus-Lambda (recombinant, Isolate 2)		✓			
Influenza A H1 (A/New Caledonia/20/99)		✓			
Adenovirus Type 3		✓			
Coronavirus 229E			✓		
Rhinovirus (1A)			✓		
Influenza A H3 (A/Brisbane/10/07)			✓		
<i>C. pneumoniae</i> (CWL-029)			✓		
Influenza B (B/Florida/02/06)				✓	
Parainfluenza Type 4A				✓	
Respiratory Syncytial Virus B (CH93(18)-18)				✓	
<i>M. pneumoniae</i> (M129)				✓	
Coronavirus HKU-1 (recombinant)				✓	
Influenza A H1N1 (A/NY/02/09)					✓
Adenovirus Type 1					✓
Respiratory Syncytial Virus A (2006 Isolate)					✓
<i>L. pneumophila</i> (Philadelphia)					✓

8. AVERTISSEMENTS ET MESURES DE PRÉCAUTION

La trousse ViroQ SARS-CoV-2 a été développée à des fins de diagnostic in vitro et ne doit être utilisée que par un personnel qualifié ayant une formation adéquate. Toutes les tâches doivent être effectuées en utilisant des bonnes pratiques de laboratoire.

Le réactif ViroQ Solvent est soumis à un étiquetage de substances dangereuses pour **avertissements** et **danger pour la santé**. Le tableau au chapitre 13 contient plus d'informations à ce sujet.

Le matériel biologique qui est utilisé pour l'extraction d'ARN, p. ex. des échantillons provenant des voies respiratoires, doit être manipulé comme étant potentiellement infectieux. Des mesures de sécurité appropriées sont recommandées lors de la manipulation de matériel biologique (ne pas pipetter avec la bouche ; porter des gants jetables et une protection du nez et de la bouche lors de la manipulation de matériel biologique ; désinfecter les mains une fois le test terminé).

Les matériels biologiques doivent être inactivés avant leur élimination (p. ex. par autoclavage). Les matériaux jetables doivent être autoclavés ou incinérés après usage.

Du matériel potentiellement infectieux renversé doit être éliminé immédiatement à l'aide d'un essuie-tout en papier absorbant et la zone contaminée doit être désinfectée au moyen d'un désinfectant approprié ou d'éthanol à 70 %. Le matériel utilisé pour enlever le matériel renversé doit être inactivé avant son élimination (p. ex. par autoclavage).

L'élimination de tous les échantillons, réactifs non utilisés et déchets doit être effectuée conformément à la législation du pays respectif et des autorités locales.

La contamination microbienne des réactifs lors de l'extraction d'aliquotes doit être évitée. Il est recommandé d'utiliser des pipettes jetables et des embouts de pipette stériles. Ne pas utiliser des réactifs troubles ou présentant des signes de contamination microbienne.

Un fiche de données de sécurité ou une explication de fiches de données de sécurité (MSDS) peut être téléchargée à l'adresse www.bag-diagnostics.com.

9. LIMITES DE LA MÉTHODE

Des mutations ou des polymorphismes au niveau des sites de liaison des amorces et des sondes peuvent conduire à des résultats négatifs.

En raison de la grande vulnérabilité de la méthode PCR en temps réel à la contamination croisée, un soin particulier doit être pris lors de l'isolement de l'ARN.

La présence d'inhibiteurs de PCR peut conduire à des résultats non valides avec ce produit. Un résultat négatif n'exclut pas une possible infection, en raison de la dépendance des résultats d'un prélèvement correct d'échantillon, de l'absence d'inhibiteurs et de la LoD définie.

Une prudence extrême s'impose pour éviter la contamination des réactifs de la trousse et d'autres matériels et dispositifs de laboratoire par des amplicons, de l'ARN ou de l'ADN. La réalisation régulière de tests de frottis et de contrôles négatifs (NTC) à l'eau distillée est fortement recommandée.

Aucun signal de fluorescence ne doit être présent dans le contrôle négatif à l'eau distillée (Ct > S.O.). En cas de présence d'un signal dans le contrôle négatif, consulter le chapitre 6.5 et, le cas échéant, décontaminer le poste de travail de PCR et, si nécessaire, remplacer les réactifs.

Tous les instruments (p. ex. pipettes, thermocycleur en temps réel) doivent être calibrés conformément aux instructions du fabricant.

Des résultats négatifs n'excluent pas une infection par le virus SARS-CoV-2 et ne doit pas être utilisée comme seule base pour les décisions concernant la prise en charge de patients. Des résultats négatifs doivent être combinés avec des observations cliniques, une anamnèse et des informations épidémiologiques.

10. CONTRÔLE DE QUALITÉ INTERNE

Le contrôle de qualité interne de nouvelles charges de la trousse ViroQ SARS-CoV-2 peut être effectué en utilisant une combinaison d'échantillons d'ARN connus pour être positifs ou négatifs. Des contrôles négatifs pour la détection d'éventuelles contaminations sont recommandés. Utiliser à cette fin une réaction PCR avec de l'eau sans RNase comme NTC.

11. DÉPANNAGE








Symptôme	Cause possible	Solution potentielle
Signal de mauvaise qualité ou absent	Présence d'inhibiteurs.	Utiliser de nouveaux réactifs.
	Pas d'ARN dans la réaction.	Répéter le test. Veiller à un pipetage correct.
	Dégradation des sondes fluorescentes ou des amorces.	Utiliser un mélange ViroQ Mix frais. Éviter l'exposition à la lumière et une décongélation et congélation fréquente. Respecter les conditions de stockage !!
	Des bulles dans la réaction PCR, des résidus de liquide sur la paroi interne des tubes de réaction.	Soigner le pipetage. Centrifuger brièvement la plaque de PCR.
	Matériel en plastique de mauvaise qualité ou non compatible	Utiliser du matériel en plastique de bonne qualité (voir chapitre 4.3).
	Évaporation des réactifs due à une fermeture incorrecte des tubes de réaction de PCR.	S'assurer que les tubes de réaction de PCR sont fermés correctement. Attention aux bords des films de scellage.
Présence de signaux dans le contrôle négatif	Contamination par ARN ou ADN dans le contrôle négatif	Répéter le contrôle négatif Décontamination du poste de travail.

12. MARQUES COMMERCIALES UTILISÉES DANS CE DOCUMENT/PRODUIT

TaqMan® est une marque de Roche Molecular Systems Inc.

Cal Fluor® est une marque déposée de la société LGC Biosearch Technologies.

13. EXPLICATION DES SYMBOLES UTILISÉS SUR LES ÉTIQUETTES

	Suffisant pour n tests
	Température de stockage / limite inférieure de température
	Date de péremption
	Respecter la notice utilisateur
	Fabricant
DRY	Séché
CONT	Contenu, contient
CONTROL +	Contrôle positif
IFU	Notice utilisateur
or	Ou
eIFU	Notice utilisateur électronique
IVD	Diagnostic in vitro
LOT	Numéro de lot
LYOPH	Lyophilisé
REF	Référence de produit
ViroQ ENZYME	Mélange d'enzymes pour les produits ViroQ
ViroQ MIX	Mélange d'amorces pour les produits ViroQ
ViroQ SOLV	Solvant pour le mélange d'enzymes ViroQ
	Avertissement H302 : Nocif en cas d'ingestion H412 : Nocif pour les organismes aquatiques, avec effets à long terme
	Danger pour la santé H371 : Peut endommager le système nerveux central. Voie d'exposition : orale

14. BIBLIOGRAPHIE

Victor M Corman, Christian Drosten et.al.(2020), Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR, Euro Surveill. 2020;25(3):pii=2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>

Protocole de l'institut Pasteur : Real-time RT-PCR assays for the detection of SARS-CoV-2. https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/real-time-rt-pcr-assays-for-the-detection-of-sars-cov-2-institut-pasteur-paris.pdf?sfvrsn=3662fcb6_2

Pour plus d'informations, visitez notre site Web <http://www.bag-diagnostics.com>

Pour des notices utilisateur dans d'autres langues visitez le site :

<http://www.bag-diagnostics.com> ou contactez/nous directement à info@bag-diagnostics.com ou par téléphone au : +49 (0)6404-925-125