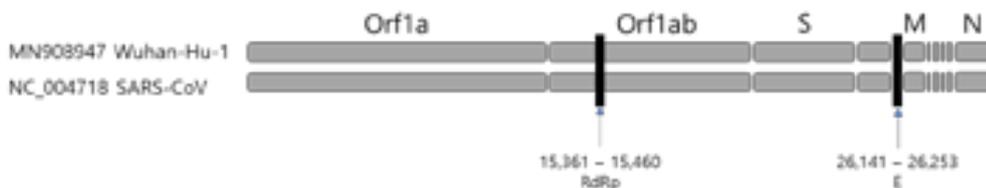




ExAmplar Covid-19 Real-Time PCR Kit (L)

UTILISATION PRÉVUE

Le kit PCR en temps réel COVID-19 ExAmplar (L) est un kit pour la détection qualitative in vitro du nouveau coronavirus 2019 (COVID-19) dans les échantillons respiratoires et les sérums. Les ensembles d'amorces et de sondes sont conçus pour la détection universelle des bêtacoronavirus et pour la détection spécifique du COVID-19. Pour le diagnostic in vitro uniquement .



INTRODUCTION

Le troisième coronavirus humain zoologique (CoV) du siècle est apparu en décembre 2019, au sein d'un groupe de patients à Wuhan, dans la province de Hubei, en Chine. Ce virus, le coronavirus 2019 nCoV nouvellement identifié, pourrait provoquer une pneumonie à risque, de sorte que la prévention et le contrôle de l'infection sont devenus hautement nécessaires. Le coronavirus 2019 nCoV fait partie du genre des bêtacoronavirus, qui comprend également le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV) et le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV). Comme il est établi que les symptômes deviennent rapidement graves sans traitement approprié après l'apparition de la maladie, un diagnostic précoce de l'infection virale est tout à fait crucial. Actuellement, la propagation de la transmission virale devient rapide, de sorte que la prévention de la transmission locale nécessite un test précis et fiable.

PRINCIPE

Le test est un kit de RT-PCR en temps réel entièrement lyophilisé et prêt à l'emploi dans des tubes PCR à 8 puits emballés séparément. La seule étape nécessaire consiste à ajouter l'ARN extrait et le tampon de remise en suspension. Le test est basé sur une méthode de RT-PCR en temps réel. Tous les composants nécessaires à la réalisation de la RT-PCR en temps réel sont incorporés sous forme de billes de réactif. Le kit contient deux types de billes dans un tube séparé pouvant détecter respectivement le gène E et le gène RdRp.

L'ARN cible est spécifiquement converti en ADNc par la transcriptase inverse et l'ADNc synthétisé est amplifié par la polymérase. Pendant l'amplification, la sonde se lie au brin amplifié et génère une fluorescence (FAM) par l'activité 5'-exonucléase de la polymérase.

La courbe d'amplification supérieure au seuil construite par le signal de fluorescence du tube de réaction montre la présence du gène du virus cible (gène E ou gène RdRp) dans le tube de réaction, ce qui signifie que l'échantillon contient le virus cible.

COMPOSANTS

Le kit PCR en temps réel COVID-19 de l'ExAmplar (L) comprend

Contrôle positif (pastille en tube), Contrôle négatif, Tubes tampon de suspension et Sachets de tubes de réaction.

- Le témoin positif est de l'ARN IVT lyophilisé avec stabilisateur. L'ARN IVT contient la séquence cible du gène E et du gène RdRp.
- Le témoin négatif est de l'eau exempte de RNase.
- Le tampon de remise en suspension est de l'eau exempte de RNase avec une petite quantité de sel. Ce tampon est utilisé pour dissoudre les billes de réaction ainsi que le culot de contrôle positif.
- Le sachet de tubes de réaction contient une bande de 8 tubes pour 4 tests. 1 test est réalisé avec 2 tubes qui contiennent deux petites billes (pour la détection du gène E) et une grande bille (pour la détection du gène RdRp).

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTION

- Pour un usage diagnostique in vitro uniquement.
- Suivez attentivement les instructions et les procédures décrites dans ce "mode d'emploi".
- Ce test doit être effectué par un personnel qualifié.
- Les numéros de lot des composants de la boîte doivent correspondre les uns aux autres.
- Ne pas échanger les composants du test entre les différents lots ni utiliser les composants du test après la date de péremption, l'un ou l'autre pouvant induire en erreur quant au(x) résultat(s) du test.
- Ne pas réutiliser. Les tubes-bandes doivent être utilisés pour le traitement d'une seule série.
- N'utilisez pas les réactifs si le tube est endommagé ou déjà ouvert.
- Après avoir ouvert le sachet du tube de réaction, utilisez les tubes de réaction immédiatement.
- Les tubes de réactifs, les embouts de pipette et les tubes-bandelettes utilisés doivent être manipulés avec précaution et jetés selon une méthode appropriée, conformément aux réglementations locales en vigueur.
- Portez un équipement de protection individuelle approprié, tel que blouse, gants et lunettes de protection, lorsque vous travaillez avec des échantillons cliniques. Le traitement des échantillons doit être effectué dans une enceinte de sécurité biologique de classe II certifiée, conformément aux directives de niveau de sécurité biologique 2 ou supérieur. Pour plus d'informations, veuillez vous référer à : Lignes directrices provisoires pour le prélèvement, la manipulation et l'analyse d'échantillons cliniques provenant de patients sous enquête (PUI) pour le nouveau coronavirus 2019 (COVID-19) dans la Biosécurité en microbiologiques et les laboratoires biomédicaux, 5e édition.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTION POUR L'ÉCHANTILLON

- Suivez les instructions et les procédures décrites dans le présent mode d'emploi.
- Utilisez les échantillons frais.
- Il est recommandé de tester l'échantillon immédiatement après son prélèvement.
- S'abstenir de fumer ou de manger pendant le prélèvement de l'échantillon.
- Les échantillons doivent être prélevés uniquement sur des écouvillons avec un embout synthétique tel que le polyester ou le Dacron® avec des tiges en aluminium ou en plastique. Les écouvillons avec des embouts en alginate de calcium ou en coton avec tiges en bois ne sont pas acceptables.
- Veuillez utiliser des écouvillons frais pour éviter une réaction croisée entre les échantillons. Ne réutilisez jamais l'écouvillon stérile.
- Les échantillons inappropriés, tels que ceux d'une personne ayant récemment pris un médicament pouvant provoquer une interaction ou les échantillons mélangés par erreur avec différents patients, entraîneront des résultats de test inexacts.
- L'échantillon congelé ne doit être décongelé qu'une seule fois. Pour l'expédition, les échantillons doivent être emballés conformément à la réglementation locale en vigueur.

STOCKAGE ET STABILITÉ

Condition de stockage		
Composant	Temperature de stockage	Durée de conservation
Contrôle positif		
Contrôle négatif	4 °C	12 mois
Tampon de resuspension		
Pochette pour tube de réaction		

Une fois la poche du tube de réaction ouverte, le test doit être effectué immédiatement.

LIMITATION DU SYSTÈME DE TEST

- les inhibiteurs de transfert pendant le processus d'extraction de l'ARN. L'instabilité ou la dégradation des enzymes au cours du temps et/ou la température peut également provoquer des faux négatifs.
- D'autres facteurs peuvent interférer avec le test et entraîner des résultats erronés, tels que des erreurs techniques/procédures, la dégradation des composants/réactifs du test ou la présence de substances interférentes dans les échantillons testés.
- Tout diagnostic clinique basé sur le résultat du test doit être étayé par un jugement complet du médecin concerné, y compris les symptômes cliniques et autres résultats de test pertinents.
- D'autres facteurs peuvent interférer avec le test et entraîner des résultats erronés, tels que des erreurs techniques/procédures, la dégradation des composants/réactifs du test ou la présence de substances interférentes dans les échantillons testés.

MATÉRIAUX FOURNIS

REF UFPK-4

Composants du Kit PCR en temps réel COVID-19 d' EXAMPLAR (L)

Boite à réactifs (48T)

- Tube de contrôle positif (Pallet en tube)	1
- Tube témoin négatif (150 µL)	1
- Tubes tampons de resuspension (1.5 mL)	2
- Sachets de tubes de réaction	12
- Mode d'emploi	1

LES MATÉRIAUX NÉCESSAIRES MAIS FOURNIS SUR DEMANDE

Les articles suivants peuvent être achetés séparément du kit PCR en temps réel COVID-19 d'ExAmplar (L).

Veuillez contacter notre division commerciale pour plus d'informations.

- Système de détection PCR en temps réel
- **ExAmplar** : REF FPRR030
- Système conventionnel de détection RT PCR
- Système d'extraction des acides nucléiques
- **NuActeur** : REF FPRR032
- Système conventionnel d'extraction des acides nucléiques
- Réfrigérateur
- Microcentrifugeuse pour 8-strip
- Tuyaux (5 µL - 200 µL)
- Embouts filtrants stériles pour microtuyaux
- Gants jetables sans poudre
- Conteneur de déchets à risques biologiques
- Portoir

LE PRÉLÈVEMENT ET LE TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS

Les types d'échantillons pour le kit PCR en temps réel ExAmplar COVID-19 (L) sont **des échantillons respiratoires humains (aspirateurs ou lavages nasopharyngés ou oropharyngés, écouvillon nasopharyngé ou oropharyngé, lavage bronchoalvéolaire, aspirateurs trachéaux et crachats) et sérum humain.**

- Manipulation et stockage des échantillons :
- Les spécimens peuvent être conservés sur le site à 4°C pendant 72 heures après leur collecte.
- Si un retard dans le prélèvement est prévu, conservez les spécimens à un lieu - 70°C ou à une température inférieure.
- Critères de rejet des spécimens :
- Les spécimens non conservés à 2~4°C ou congelés à -70°C ou moins.
- Type de spécimen inapproprié :
- Volume de spécimens insuffisant.

MISE EN PLACE DES TESTS

- Vérifiez le contenu du kit PCR en temps réel COVID-19 d'ExAmplar (L) : Contrôle positif (pastille en tube), Contrôle négatif, Tubes tampon de suspension et Sachets de tubes de réaction.
- Placez le tube de réaction avec le portoir sur une surface propre, exempte de poussière et plane.
- Évitez les endroits directement exposés au vent.

PROCÉDURE DE TEST

Extraction d'acides nucléiques

1 - La performance des tests basés sur l'amplification RT-PCR en temps réel dépend de la quantité et de la qualité de l'ARN modèle de l'échantillon. Les procédures d'extraction de l'ARN doivent être qualifiées et validées en termes de récupération et de pureté avant de tester les échantillons.

2 - Les procédures d'extraction disponibles dans le commerce qui se sont avérées générer de l'ARN hautement purifié lors des procédures recommandées par le fabricant pour l'extraction de l'échantillon comprennent le mini kit ARN viral QIAamp ou équivalent.

3 - Système Roche MagNA Pure 96 ou équivalent

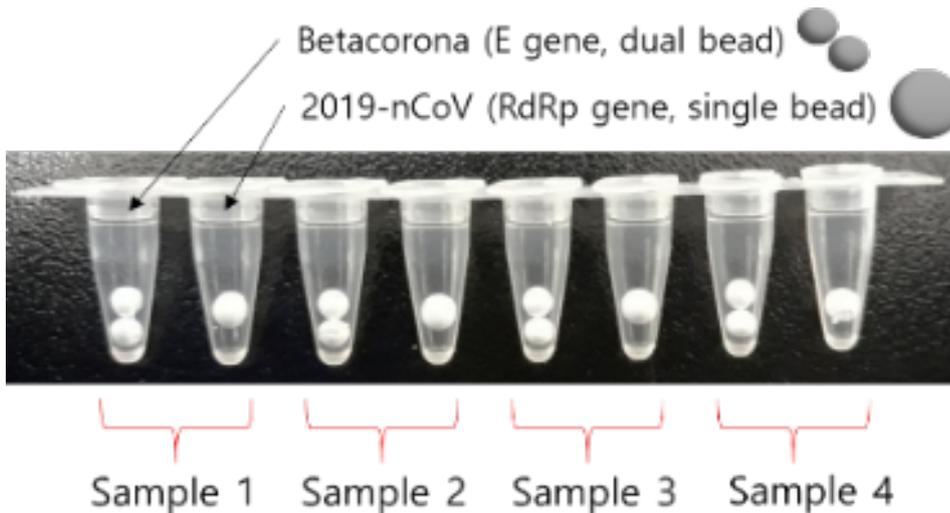
4 - Conserver le spécimen résiduel et l'extrait nucléique et stocker immédiatement à -70 °C.

5 - Ne décongeler que le nombre d'extraits de spécimens qui seront testés en une seule série.

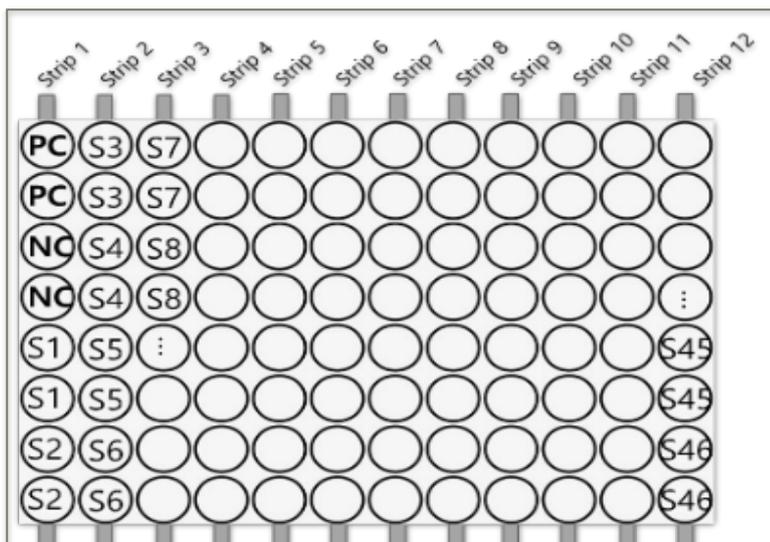
6 - Ne pas congeler/décongeler les extraits plus d'une fois avant de les tester.

Procédure de test

- 1- 2 tubes sont destinés à un seul test. Le tube à une perle et le tube à deux perles sont destinés à l'amplification du gène RdRp et du gène E respectivement.
- 2- Ouvrez la pochette et placez la bandelette du tube dans le portoir à tubes.
- 3 - Ouvrez les bouchons de la bandelette tubulaire.
- 4 - Distribuez 15 µl d'eau dans chacun des puits.
- 5 - Ajoutez 5 µL d'échantillon dans le tube à une perle. Et ajoutez le même échantillon (5 µL) dans le tube à deux billes (volume total de la réaction = 20 µL). Mélangez doucement en pipettant 3 ~ 4 fois.
- Si la qualité ou la pureté de l'ARN extrait est suffisamment élevée (s'il n'y a aucune chance d'inclure un inhibiteur de PCR dans la solution d'ARN extrait), vous pouvez dissoudre les billes avec 20 µL d'échantillon d'ARN extrait uniquement sans utiliser de tampon de re-suspension.
- 6 - Fermez bien les bouchons des tubes.
- 7 - Faites une brève rotation.



- 8 - Étiqueter le TAB de chaque bandelette pour indiquer la position de l'échantillon. **NE PAS ÉTIQUETER LE HAUT DU TUBE DE RÉACTION.**
- 9 - Pour le contrôle de qualité, chaque lot de test doit comprendre un contrôle positif et un contrôle négatif. Si vous préformez le test avec un système à 96 puits, par exemple, deux tubes (à une et deux billes) pour le contrôle positif (PC) et deux autres tubes pour le contrôle négatif (NC) sont nécessaires, comme le montre la figure suivante.



Veillez utiliser un tampon de remise en suspension de 150 µl pour dissoudre le culot de contrôle positif dans le tube. Après le passage à la centrifugeuse, utilisez 5 µl de contrôle positif remis en suspension. La solution de contrôle positif dissoute doit être conservée à 4 °C.

10 - Régler les conditions de RT-PCR suivantes (canal : FAM) :

Température (°C)	Durée (min:sec)	Nombre de cycles.
54	15:00	1
95	05:00	
95	00:15	45
58	00:40	

L'INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DES TESTS

- Une fois le cycle terminé, enregistrez et analysez les données en suivant les instructions du fabricant de l'instrument.
- Les NC doivent être négatives et ne pas présenter de courbes de croissance de fluorescence qui dépassent la ligne de seuil.
- Si un faux positif se produit, l'échantillon peut avoir été contaminé : Invalidez l'essai et répétez le test en respectant plus strictement les directives de la procédure.
- Le PC doit produire un résultat positif avec une valeur de Ct attendue.
- Si la réactivité positive attendue n'est pas atteinte, invalidez l'essai et répétez le test en respectant plus strictement les directives de la procédure.

Interprétation des résultat

Exemple	Resultat		Résultat Interprétation
	Tube à double perle (FAM, gène E)	Tube à une perle (FAM, gène RdRp)	
Exemple	+ (Ct ≤ 42)	+ (Ct ≤ 42)	SARS-CoV-2 positif
	+ (Ct ≤ 42)	- (Ct > 42) ou pas de signal	SRAS-CoV-2 Négatif Betacoronavirus positif
	- (Ct > 42) ou pas de signal	+ (Ct ≤ 42)	Résultat de test non valable
	- (Ct > 42) ou pas de signal	- (Ct > 42) ou pas de signal	SRAS-CoV-2 Négatif
Contrôle positif	+ (Ct ≤ 35)	+ (Ct ≤ 35)	Résultat de test valide
	+ (Ct ≤ 35)	- (Ct > 35) ou pas de signal	Résultat de test non valable
	- (Ct > 35) ou pas de signal	+ (Ct ≤ 35)	
	- (Ct > 35) ou pas de signal	- (Ct > 35) ou pas de signal	
Contrôle négatif	+ (Ct ≤ 42)	+ (Ct ≤ 42)	Résultat de test non valable
	+ (Ct ≤ 42)	- (Ct > 42) ou pas de signal	
	- (Ct > 42) ou pas de signal	+ (Ct ≤ 42)	Résultat de test valide
	- (Ct > 42) ou pas de signal	- (Ct > 42) ou Pas de signal	

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Sensibilité analytique

	Limite de détection	Intervalle de confiance (IC) de 95%.
E gene	5.2 copies/μL	4.2 ~ 7.2 copies/μL
RdRp gene	15.1 copies/μL	12.5 ~ 19.6 copies/μL

Spécificité analytique

- Interférence

Les matériaux d'interférence figurant dans le tableau ont été ajoutés au(x) échantillon(s) d'essai. Les résultats des tests du **kit PCR en temps réel COVID-19 ExAmplar (L)** n'ont montré aucune interférence significative avec ces matériaux

Nom	Concentration
Sprays nasaux en gouttes / Oxymétazoline	1 mg/ml
Médicaments homéopathiques contre les allergies / Chlorhydrate de fexofénadine	7 mg/ml
Antibiotique, pommade nasale / clarithromycine	10 mg/ml
Pastille pour la gorge / VICKS, chlorure de cétylpyridinium	40 mg/ml
Pastille pour la gorge / extrait de nandine	40 mg/ml

- Réactivité croisée

Pour toutes les séquences d'oligomères, le SARS-CoV-2 a montré une valeur E significativement plus faible par rapport au virus à comparer, ce qui se traduit par un accord élevé. Cela indique que l'oligomère appliqué au kit PCR en temps réel COVID-19 d'ExAmplar (L) se lie spécifiquement au CoV-2 du SRAS par rapport au virus à comparer, et la probabilité de se lier accidentellement à d'autres virus est faible.

Le signal de détection est généré par une combinaison d'amorces et de sondes avant / arrière. Le CoV-2 du SRAS présente une bonne concordance avec les trois oligomères. Par rapport à la différence de valeur E, la possibilité de réactivité croisée avec d'autres virus similaires provoquant des maladies respiratoires est nettement plus faible.

Nom	Ref. Seq.
SRAS-CoV-2	NC_045512
Virus de la grippe A	NC_002023
Virus de la grippe B	NC_002204.1
Virus respiratoire syncytial (VRS)	NC_001803
Virus parainfluenza humain 1	NC_003461
Métapneumovirus humain	NC_039199
Rhinovirus humain	NC_038311
Adénovirus humain	NC_000007

Précision

- Intra-essai

Un opérateur a testé le kit PCR en temps réel COVID-19 ExAmplar (L) 2 fois/jour pendant 20 jours dans les mêmes conditions. Nous avons constaté que le test donnait des résultats fiables.

- Inter-essai

Trois opérateurs différents ont testé 10 fois le kit PCR en temps réel COVID-19 ExAmplar (L) dans les mêmes conditions. Nous avons constaté que les résultats des tests étaient fiables.

Performance clinique

Le milieu de culture SARS-CoV-2 prélevé sur des patients ayant été infectés par le nouveau coronavirus a été dilué en série, et l'ARN a été extrait et testé en appliquant l'ARN du génome entier. Les résultats des tests ont montré un

changement constant de la valeur Ct dans le gène E et la région cible du gène RdRP, et un signal non spécifique n'a normalement pas été généré dans le témoin négatif. Il est donc confirmé que le kit PCR en temps réel ExAmplar COVID-19 (L) détecte le génome entier extrait du nouveau coronavirus et convient au diagnostic de l'infection par le nouveau coronavirus.

REFERENCES

1. Détection diagnostique du 2019-nCoV par RT-PCR en temps réel. Berlin, 17 janvier (2020). Protocole recommandé par l'OMS.
2. Rangarajan Sampath, Steven A. Hofstadler, Lawrence B. Blyn, Mark W. Eshoo, Thomas A. Hall, Christian Massire, Harold M. Levene, James C. Hannis, Patina M. Harrell, Benjamin Neuman, Michael J. Buchmeier, Yun Jiang, Raymond Ranken, Jared J. Drader, Vivek Samant, Richard H. Griffey, John A. McNeil, Stanley T. Crooke, David J. Ecker. Identification rapide des agents pathogènes émergents : Coronavirus. Disque d'infection émergente. 11 (2005) : 373-379.

Note : Veuillez vous référer au tableau ci-dessous pour identifier les différents symboles.

	Sufficient for <n> tests
	Read instruction for use
	Use by Date
	Batch code
	Catalog number
	Caution
	Manufacturer
	Authorized representative of the European Community
	In vitro diagnostic medical device
	Temperature limit
	Do not reuse
	This product fulfills the requirements of the Directive 98/79/EC on in vitro diagnostic medical devices

Pour une assistance technique, veuillez contacter :

Services techniques de Boditech Med Inc. Tél : +(82) 33 243-1400 E-mail : sales@boditech.co.kr

Boditech Med Incorporated

43, Geodudanji 1-gil, Dongnae-myeon, Chuncheon-si, Gang-won-do, 24398, République de Corée
Tél : +(82) 33 243 1400 Fax : +(82) 33 243 9373 www.boditech.co.kr

European representative : Obelis s.a : Bd. Général Wahis 53, 1030 Bruxelles, BELGIQUE

Tél : +(32) 2 732 59 54 Fax: +(32) 2 732 60 03 E-Mail: mail@obelis.net

