



## PlexPCR<sup>®</sup> SARS-CoV-2

### Test de PCR multiplexe en temps réel pour la détection du SARS-CoV-2



Produit	Plateforme	Taille (réactions)	Référence
<b>PlexPCR<sup>®</sup> SARS-CoV-2</b>	LC480 II CFX96 <sup>™</sup> Dx CFX96 Touch <sup>™</sup>	384	<b>REF 1301384</b>

#### Produits accessoires – Logiciel d'analyse

<b>PlexPCR<sup>®</sup> SARS-CoV-2 (LC480)</b>	<b>REF 99021</b>
<b>PlexPCR<sup>®</sup> SARS-CoV-2 (CFX)</b>	<b>REF 99022</b>



**MedEnvoy**  
Prinses Margrietplantsoen 33 – Suite 123  
2595 AM La Haye  
Les Pays-Bas



**SpeeDx Pty Ltd**  
Suite 102, National Innovation Centre  
4 Cornwallis Street, Eveleigh  
NSW 2015, Australie

#### RÉSERVÉ À UN USAGE PROFESSIONNEL

Non destiné à la vente aux États-Unis

## Contenus

1	Description du produit .....	4
2	Usage prévu .....	4
3	Informations sur les pathogènes .....	4
4	Contenu du kit .....	4
5	Expédition et stockage .....	5
6	Avertissements et précautions .....	5
6.1	Généralités .....	5
6.2	Laboratoire .....	5
6.3	Manipulation des échantillons .....	5
6.4	Dosage .....	5
6.5	Mesures de sécurité .....	5
6.6	Avertissements et précautions pour le module de test .....	5
7	Matériel requis mais non fourni .....	6
8	Principe de la technologie .....	8
9	Vue d'ensemble de la procédure .....	9
10	Détails de la procédure .....	10
10.1	Prélèvement, transport et stockage des échantillons .....	10
10.2	Traitement des échantillons .....	10
10.2.1	Volumes de réactif pour le MGISP-960 .....	10
10.2.2	Volumes de réactif pour le KingFisher et le PurePrep .....	11
10.3	Internal Control (IC) (Contrôle interne (CI)) .....	11
10.3.1	Contrôle interne sur le MagNA Pure 96, le KingFisher Flex et le PurePrep 96 .....	11
10.4	Préparation de la PCR en temps réel .....	12
10.4.1	Préparation du mélange de solution-mère .....	12
11	Programmation et analyse .....	12
12	Interprétation des résultats .....	13
13	Limitations .....	13
14	Contrôle de qualité .....	13
15	Consignes d'utilisation du contrôle positif REDx™ FLOQ SARS-CoV-2 .....	14
15.1	Mode d'emploi .....	14
16	Caractéristiques de performance .....	15
16.1	Performance clinique .....	15
16.1.1	Étude clinique 1 .....	15
16.2	Performance analytique .....	15
16.2.1	Répétabilité et reproductibilité .....	15
16.2.1.1	LightCycler® 480 Instrument II .....	15
16.2.1.2	Systèmes de détection par PCR en temps réel CFX96™ Dx et CFX96 Touch™ .....	16
16.2.2	Sensibilité analytique .....	17
16.2.2.1	LightCycler® 480 Instrument II .....	17
16.2.2.2	Flux de travail avec le MGISP-960 et le LightCycler® 480 Instrument II .....	18
16.2.3	Spécificité analytique .....	20
16.2.4	Analyse <i>In silico</i> .....	21
16.2.5	Inclusion .....	21

16.2.6	Substances potentiellement interférentes.....	21
17	Service clients et assistance technique.....	21
18	Références.....	22
19	Annexe 1 : LightCycler® 480 Instrument II .....	23
19.1	Programmation du LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II).....	23
19.2	Configuration d'un modèle macro pour le LightCycler® 480 Instrument II.....	28
19.3	Colour Compensation (Compensation de couleur) pour LightCycler® 480 Instrument II.....	35
19.4	Interprétation des résultats.....	35
20	Annexe 2 : systèmes de PCR en temps réel Bio-Rad CFX96™ Dx et CFX96 Touch™ .....	37
20.1	Programmation des systèmes de détection par PCR en temps réel CFX96™ Dx et CFX96 Touch™ (CFX96 Dx, CFX96 Touch) 37	
20.2	Interprétation des résultats avec le logiciel intégré CFX.....	40
20.3	Exportation des résultats à partir de l'analyse intégrée .....	43
20.4	Interprétation des résultats avec le logiciel d'analyse PlexPCR SARS-CoV-2 (CFX).....	45
21	Annexe A : Interprétation des résultats .....	46
21.1	Plateforme FastFinder – Exigences informatiques minimales .....	46
21.2	Device set up (Configuration du dispositif) (nouvel utilisateur ou nouveau dispositif).....	47
21.2.1	Compensation de couleur.....	47
21.3	Module de test (nouvel utilisateur).....	48
21.4	Dénomination des échantillons.....	48
21.5	Ajouter des numéros de lot de mélange.....	49
21.6	Analyse .....	49
21.7	Résultats .....	50
21.8	Courbe de référence .....	50
21.9	Aperçu des résultats.....	51
21.10	Exporter des résultats .....	52
22	Glossaire.....	53

## 1 Description du produit

Le kit **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 est un test par PCR multiplexe à 1 puits pour la détection du coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu (SARS-CoV-2). Le test propose 3 systèmes de lecture ; le système de lecture 1 indique la présence ou l'absence du SARS-CoV-2 grâce à la détection d'un gène de cadre ouvert de lecture (ORF1ab) ; le système de lecture 2 indique la présence ou l'absence du SARS-CoV-2 grâce à la détection du gène RdRp (ARN polymérase ARN-dépendante) ; le système de lecture 3 est un contrôle interne de l'ARN (CI) pour contrôler l'efficacité de l'extraction et l'inhibition qPCR. Le kit **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 utilise la technologie **PlexZyme**<sup>®</sup> pour la spécificité et pour une capacité de multiplexage supérieure.

Ce test est validé sur des échantillons extraits en utilisant le système MagNA Pure 96 System (Roche), PurePrep 96 (Molgen) et le système de purification des échantillons KingFisher<sup>™</sup> (ThermoFisher), la manipulation des liquides en utilisant le système **PlexPrep**<sup>™</sup> (SpeedX), et la détection en temps réel sur le LightCycler<sup>®</sup> 480 II Instrument (LC480 II, Roche) et les systèmes de détection par PCR en temps réel CFX96<sup>™</sup> Dx (CFX96 Dx, Bio-Rad), et CFX96 Touch<sup>™</sup> (CFX96 Touch, Bio-Rad).

## 2 Usage prévu

Le kit **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 est un test *in vitro* par PCR en temps réel de transcription inverse (RT-qPCR) pour la détection qualitative du SARS-CoV-2.

Le kit **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 est destiné à faciliter le diagnostic du SARS-CoV-2 et doit être utilisé en conjonction avec les autres informations cliniques et de laboratoire.

Le kit **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 peut être utilisé avec le type d'échantillon suivant : écouvillons nasopharyngés uniquement.

Le kit **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 doit être utilisé dans des structures professionnelles, telles que des hôpitaux ou des laboratoires de référence ou d'État. Il n'est pas destiné à être utilisé comme test d'autodépistage, à domicile ou sur le lieu des soins.

La population cible prévue pour le kit **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 est constituée de patients symptomatiques soupçonnés d'être infectés par le coronavirus associé au syndrome respiratoire aigu sévère (SARS-CoV2) par leur prestataire de soins sur la base de manifestations cliniques et/ou des antécédents.

## 3 Informations sur les pathogènes

Une épidémie d'une maladie respiratoire à l'étiologie inconnue, dans la ville de Wuhan, province de Hubei, Chine, a été initialement signalée à l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) le 31 décembre 2019.<sup>1</sup> Un nouveau coronavirus a été ultérieurement identifié et appelé SARS-CoV-2 (coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu), provoquant la maladie transmissible COVID-19 (maladie à coronavirus 2019).<sup>2</sup> Le SARS-CoV-2 a entraîné une pandémie mondiale avec plus de 75 millions de cas confirmés et plus de 1,5 million de décès à la fin du mois de septembre 2020.<sup>3</sup>

## 4 Contenu du kit

Nombre de tests : 384 réactions

Tableau1. Contenu du kit pour <b>PlexPCR</b> <sup>®</sup> SARS-CoV-2 (Réf. 1301384)			
Couleur du capuchon	Contenus	Description	Quantité
Marron	SARS-CoV-2 Mix (Mélange SARS-CoV-2), 20x	Mélange contenant des oligonucléotides <sup>^</sup> pour l'amplification et la détection du SARS-CoV-2 et le contrôle interne pour LC480 II et CFX	2 x 150 µL
Vert	<b>Plex</b> Mastermix (Mélange de solution-mère <b>Plex</b> ), 2x	Mélange de solution-mère contenant les composants requis pour la qPCR, notamment des dNTP, du MgCl <sub>2</sub> , de l'ADN polymérase et du tampon	2 x 1,2 mL
Neutre	RTase, 100x	Enzyme de transcription inverse pour la génération d'ADN complémentaire (ADNc) pour la matrice d'ARN	1 x 90 µL
Noir	RNase Inhibitor (Inhibiteur RNase), 50x	Inhibiteur RNase	1 x 135 µL
Violet	Internal Control RNA <sup>#</sup> (ARN de contrôle interne)	Cellules de contrôle interne contenant la matrice d'ARN de contrôle interne pour surveiller l'efficacité de l'extraction, de la transcription inverse et de l'amplification	1 x 200 µL
Bleu	Nuclease Free Water (Eau sans nucléase)	Eau de qualité PCR	1 x 1 mL

<sup>#</sup> Conserver les tubes de matrices dans un endroit différent des mélanges d'oligonucléotides, c.-à-d. une salle de manipulation de matrice ou d'acide nucléique

<sup>^</sup> Les oligonucléotides sont des paires d'amorce PCR, des enzymes **PlexZyme**<sup>®</sup> et des sondes fluorescentes

<sup>\*</sup> Suffisant pour 384 tests de 10 µL. Volume supplémentaire fourni pour la compatibilité avec l'instrumentation de manipulation des liquides, validée avec **PlexPrep**<sup>™</sup> (SpeedX).

## 5 Expédition et stockage

- Les composants des kits **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 sont livrés sur de la glace sèche ou des packs de refroidissement. Tous les composants doivent être conservés entre -25 °C et -15 °C dès leur réception. Il est recommandé de ne pas dépasser 10 cycles de congélation/décongélation.
- Quand le kit est conservé conformément aux conditions recommandées et qu'il est manipulé correctement, il conserve son activité jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Ne pas l'utiliser après la date de péremption.

## 6 Avertissements et précautions

### 6.1 Généralités

- Réservé au diagnostic *in vitro*.
- Lire attentivement ce mode d'emploi avant utilisation. Suivre rigoureusement les procédures décrites pour garantir la fiabilité des résultats du test. Toute déviation de ces procédures peut affecter les performances du test.
- Les utilisateurs doivent être dûment formés à l'utilisation du test **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2.
- Tout incident grave doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

### 6.2 Laboratoire

- Il est recommandé de procéder à la préparation/extraction de l'échantillon, à la préparation du mastermix, à l'ajout de l'échantillon et au thermocyclage dans des espaces séparés les uns des autres. Idéalement, l'instrument de PCR devrait au moins se trouver dans une pièce séparée des zones où se préparent les réactions.
- Il est recommandé de suivre les précautions de laboratoire habituelles. Portez un équipement de protection individuelle adapté, tel que des gants, des lunettes de protection et une blouse de laboratoire lorsque vous manipulez des réactifs.
- Les échantillons cliniques peuvent contenir des organismes pathogènes. Traitez tous les échantillons biologiques comme potentiellement infectieux et suivez les procédures de sécurité de votre établissement pour la manipulation des produits chimiques et des échantillons biologiques.
- Suivez les procédures d'élimination des déchets dangereux de votre établissement pour éliminer correctement les échantillons, les réactifs et autres matériaux potentiellement contaminés.

### 6.3 Manipulation des échantillons

- Les échantillons doivent être prélevés, transportés et conservés en utilisant les techniques de laboratoire standard ou conformément aux instructions du kit de prélèvement.

### 6.4 Dosage

- Les précautions fondamentales pour prévenir la contamination des réactions PCR comprennent l'utilisation d'embouts de pipette stériles à filtre, l'utilisation d'un nouvel embout de pipette pour chaque opération de pipetage et la séparation du processus analytique.
- Les tests PCR sont susceptibles d'être contaminés par les produits de PCR précédents. N'ouvrez jamais les récipients de réaction après la fin de la PCR.

### 6.5 Mesures de sécurité

- Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles sur demande. Veuillez contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour plus d'informations.

### 6.6 Avertissements et précautions pour le module de test

- Le logiciel SpeedX vérifie uniquement l'analyse des données brutes produites par le kit de test lorsqu'il est utilisé avec son instrument de PCR respectif. La préparation des échantillons, des réactions, la programmation de l'équipement ou l'administration du traitement ne sont pas vérifiés.
- Les utilisateurs doivent suivre une formation appropriée pour le logiciel d'analyse dont l'accès doit être limité à chaque utilisateur unique affecté.
- Il est recommandé de mettre en place un accès avec authentification de l'utilisateur et des contrôles de cybersécurité tels qu'un logiciel antivirus ou d'installer un pare-feu sur le système informatique et l'infrastructure utilisant le logiciel.
- En cas d'incident de cybersécurité comme un accès non autorisé et une attaque par rançongiciel, veuillez solliciter une aide en contactant [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au).

## 7 Matériel requis mais non fourni

### *Matériel de contrôle positif*

- Contrôle positif REDx™ FLOQ SARS-CoV-2 sur écouvillon (Microbix, Cat. n° RED-S-19-01)

### *Consommables de laboratoire généraux*

- Gants et blouses de laboratoire propres
- Mélangeur vortex
- Centrifugeuse de paillasse pour tubes de 0,5 et 1,5 mL
- Micro-pipeteurs
- Pipeteurs multicanaux
- Embouts de pipette résistants aux aérosols, stériles
- Tubes de 0,5 mL et 1,5 mL (qualité PCR)
- Couvre-cle adhésif
- Tubes de 2,0 mL (pour la prédilution des cellules de contrôle interne)

### *Pour le MagNA Pure 96 Instrument*

- Phosphate Buffered Saline (PBS) (Tampon phosphate salin) 1x
- MagNA Pure 96 Internal Control Tube (Tube de contrôle interne, Roche, réf. 00374905001)
- MagNA Pure 96 DNA et Viral NA Small Volume Kit (kit petit volume, Roche, réf. 06543588001)
- MagNA Pure 96 System Fluid (external) (Système de fluide externe, Roche, réf. 06640729001)
- MagNA Pure 96 Processing Cartridge (Cartouche de traitement, Roche, réf. 06241603001)
- MagNA Pure 96 Pure tip 1000µL (Embout, Roche, réf. 6241620001)
- MagNA Pure 96 Output Plate (plaque de sortie, Roche, réf. 06241611001)
- MagNA Pure Sealing Foil (feuille d'hermétisation, Roche, réf. 06241638001)

### *Pour l'instrument MGISP-960*

- Nucleic Acid Extraction Kit 96 prep [Kit d'extraction d'acide nucléique 96 prep, MGI, ref. 1000022201(ARTG-IVD)] ou Nucleic Acid Extraction Kit 96 prep [Kit d'extraction d'acide nucléique 96 prep, MGI, réf. 1000021042 (CE-IVD)]
- 4 x 250 µL automated filter tips (embouts de filtre automatisés, MGI, réf. 1000000723)
- 5 x 1,3 mL U-bottom deep-well plate (plaque de puits profonds à fond en U, MGI, réf. 1000004644)
- 1 x Hard-shell thin-wall 96-well skirted PCR plate, white shell/clear well (plaque PCR 96 puits à coque dure, paroi fine, avec jupe, coque blanche/puits transparents, MGI, réf. 1000012059)
- Tube 50 mL, sans ADNase ni ARNase
- Éthanol absolu (100 %)
- Plaque centrifuge

### *Pour l'instrument PurePrep 96*

- Phosphate Buffered Saline (PBS) (Tampon phosphate salin) 1x
- Eau moléculaire
- Plaque de puits 2mL de profondeur PurePrep (réf. Molgen MG96020050)
- Plaque d'éluion 200 µL PurePrep 96 (réf. Molgen MG96010050)
- Portoirs d'embouts PurePrep 96 (réf. Molgen MG96030050)
- Kit d'extraction de pathogènes Molgen PurePrep 1x96 (réf. Molgen OE00290096) OU kit 10x96 (réf. Molgen OE00290960)
- Agitateur de microplaque (vitesse minimale 1000 RPM)
- Réservoirs de réactif 50 mL pour pipettes à 8 canaux
- Tubes Falcon 50 mL

*Pour KingFisher Flex*

- Phosphate Buffered Saline (PBS) (Tampon phosphate salin) 1x
- Thermofisher MagMAX Viral and Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit (Kit d'isolation d'acide nucléique viral/pathogène Thermofisher MagMAX, réf. Thermofisher A42352)
- KingFisher 96 deep-well plate, v-bottom, polypropylene (Plaque de 96 puits profonds, fond en v, polyprène, ref. Thermofisher 95040450)
- KingFisher 96 tip comb for deep-well magnets (peigne à 96 pointes pour aimants, réf. Thermofisher 97002534)
- KingFisher 96 microplate (200 µL) (Microplaque 96 puits, réf. Thermofisher 97002540)
- 80 % éthanol
- Réservoirs de réactif 50 mL pour pipettes à 8 canaux
- Tubes Falcon 50 mL

*Pour l'instrument de manipulation des liquides SpeedX PlexPrep™*

- Plateau à 8 positions **PlexPrep™** avec 2 canaux indépendants et une tête à 8 sondes (réf. 6600200-01)
- 4 portoirs de cônes de pipette (réf. HMT-6600533-01)
- 4 modules de tube à 24 positions (réf. HMT-6600555-01)
- 1 module de petits tubes à 24 positions (réf. HMT6600409-01)
- Embouts filtrants conductifs de 50 µL (réf. HMT-235948)
- Embouts filtrants conductifs de 300 µL (réf. HMT-235903)
- Embouts filtrants conductifs de 1 000 µL (réf. HMT-235905)

*Pour le LightCycler® 480 Instrument II*

- **PlexPCR®** Colour Compensation (CC) Kit (kit de compensation de couleur, SpeedX, réf. 90001)
- LightCycler® 480 Multiwell Plate 96 (plaque à 96 puits, Roche, réf. 04729692001)
- LightCycler® 480 Multiwell Plate 384 (plaque à 384 puits, Roche, réf. 04729749001)
- LightCycler® 480 Sealing Foil (feuille d'hermétisation, Roche, réf. 04729757001)

*Pour les systèmes de détection par PCR en temps réel CFX96™ Dx et CFX96 Touch™*

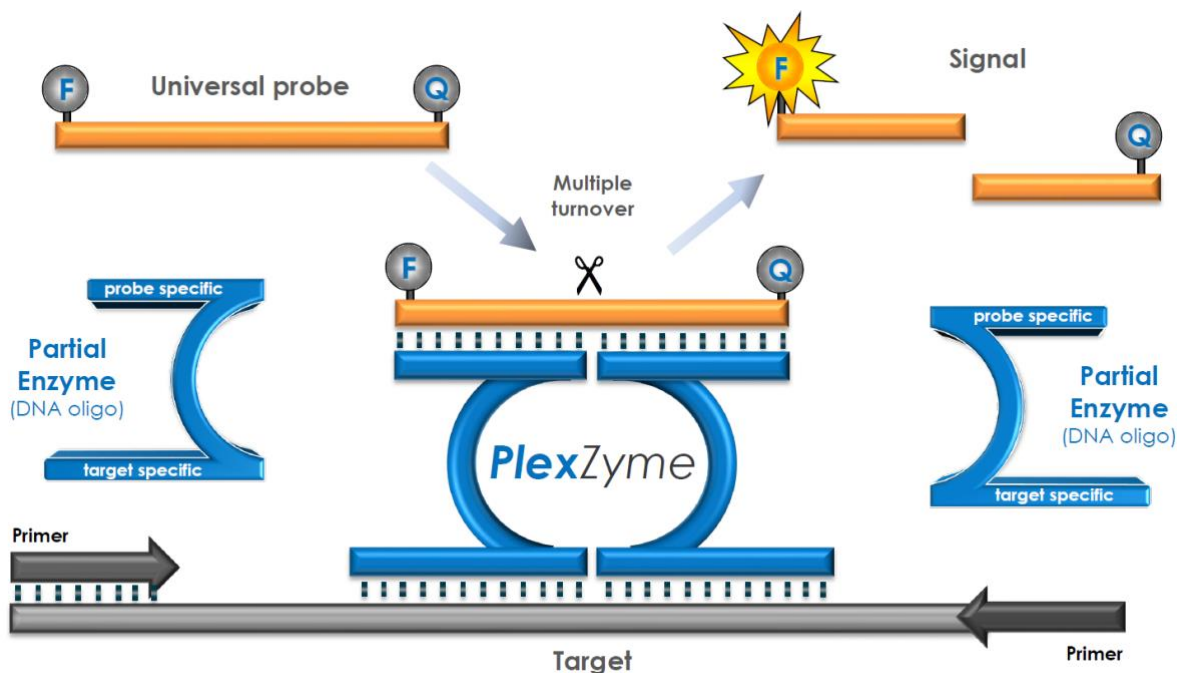
- Hard-Shell® 96-Well PCR Plates, low profile, semi skirted, clear shell /clear well (plaques de PCR 96 puits, profil bas, avec rebord, transparent coque/transparents puits, réf. Bio-Rad, Cat HSL9901 ou HSL9601)
- Microseal® 'B' PCR Plate Sealing Film, adhesive, optical (film adhésif et optique d'hermétisation, Bio-Rad, réf. MSB1001)

## 8 Principe de la technologie

La PCR en temps réel (qPCR) peut être utilisée pour amplifier et détecter les acides nucléiques cibles spécifiques des pathogènes. **PlexPCR®** est une technologie de qPCR utilisant les enzymes **PlexZyme®** qui détecte et signale le produit amplifié en produisant un signal fluorescent (**Figure 1**).

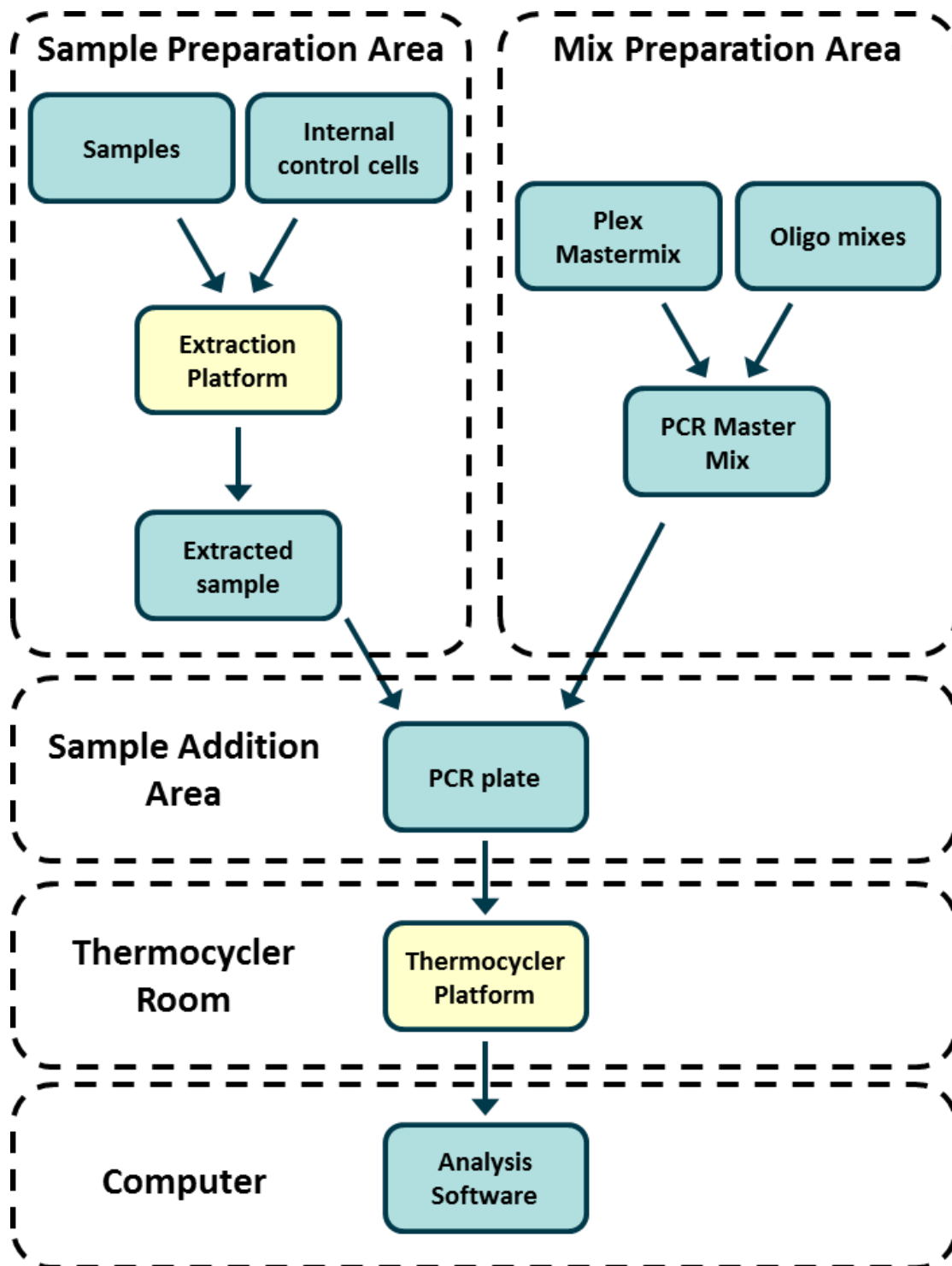
Les enzymes **PlexZyme®** sont des complexes d'ADN catalytiques composés de deux oligonucléotides d'ADN désignés par le terme « enzymes partielles ». Chaque enzyme partielle possède une région spécifique à une cible, une âme catalytique et une région universelle de liaison de la sonde. Quand le produit cible est présent, les deux enzymes partielles se lient côte-à-côte pour former l'enzyme **PlexZyme®** active possédant l'activité catalytique pour cliver une sonde marquée. Le clivage sépare les colorants du fluorophore et du désactivateur, produisant un signal fluorescent qui peut être surveillé en temps réel. Les enzymes **PlexZyme®** ont une spécificité supplémentaire par rapport aux autres technologies de détection, car deux enzymes partielles doivent se lier pour la détection. Les enzymes **PlexZyme®** sont également des enzymes à renouvellement multiple, et plusieurs sondes peuvent être clivées au cours de chaque cycle de PCR, produisant un signal puissant et sensible. En raison de la sensibilité et la spécificité élevées des tests **PlexZyme®**, ceux-ci sont parfaits pour la détection multiplexe de pathogènes.

Figure 1. Représentation schématique de la détection et de la signalisation universelle de **PlexZyme®**





9 Vue d'ensemble de la procédure



## 10 Détails de la procédure

**Remarque :** les réactifs fournis sont cités en italiques et la couleur du capuchon du tube est indiquée entre parenthèses.

### 10.1 Prélèvement, transport et stockage des échantillons

Un prélèvement, un stockage et un transport des échantillons inadéquats ou inappropriés sont susceptibles de produire des résultats de test erronés. Une formation appropriée au prélèvement des échantillons est fortement recommandée pour garantir la qualité et la stabilité des échantillons.

Suivre les consignes du fabricant du dispositif de prélèvement d'échantillons pour adopter les méthodes de prélèvement appropriées.

Avant toute méthode de prélèvement, le personnel qualifié doit s'assurer de la bonne compréhension du dispositif et de la méthodologie. Il faut au moins examiner la description du test pour connaître les éléments suivants : indication du type d'échantillon, volume suffisant, procédure(s), matériel de prélèvement nécessaire, préparation du patient et consignes de manipulation et de stockage appropriées.

Les écouvillons nasopharyngés doivent être prélevés et transportés conformément aux instructions du kit de prélèvement. Nous recommandons que les échantillons d'écouvillons nasopharyngés soient analysés immédiatement ou conservés entre -25° C et -15° C dès leur réception et de ne pas les congeler-décongeler plus de trois fois au cours de leur utilisation.

### 10.2 Traitement des échantillons

Le kit *PlexPCR*<sup>®</sup> SARS-CoV-2 a été validé sur les instruments d'extraction suivants du **Tableau 2**.

Voir la **Section 10.3** pour les consignes d'utilisation de l'Internal Control (Contrôle interne).

Voir la **Section 15** pour les consignes d'utilisation du kit de contrôle positif d'écouvillon REDx™ FLOQ SARS-CoV-2.

Tableau 2. Protocoles d'extraction validés				
Instrument	Kit d'extraction	Volume d'échantillon	Protocole	Volume d'élution
MagNA Pure 96 <sup>a b</sup>	MagNA Pure 96 DNA et Viral NA Small Volume Kit	200 µL	Pathogen Universal 200	50 µL
MGISP-960 <sup>a b</sup>	Kit d'extraction d'acide nucléique	180 µL	Flux de travail standard d'extraction automatisée MOISP-960	30 µL
KingFisher Flex <sup>a b</sup>	Kit d'isolation d'acide nucléique viral/pathogène MagMAX	200 µL	MVP_Flex_200 µL	50 µL
PurePrep 96 <sup>a b</sup>	Kit pathogène PurePrep	200 µL	PP v.3	50 µL

<sup>a</sup> Voir 10.3.1 pour les modalités d'utilisation du contrôle interne sur le MagNA Pure 96, le KingFisher Flex et le PurePrep 96

<sup>b</sup> Les échantillons doivent être ajoutés au mélange de solution-mère dans les 30 minutes suivant l'extraction

#### 10.2.1 Volumes de réactif pour le MGISP-960

Tableau 3. Volumes de réactif MGISP-960 par échantillon		
Réactif	Volume par échantillon	Plaqué
Tampon MLB	160 µL	Plaqué de puits profonds à fond en U (mélange tampon préparé)
Éthanol absolu*	200 µL	Plaqué de puits profonds à fond en U (mélange tampon préparé)
Billes magnétiques M	15 µL	Plaqué de puits profonds à fond en U (mélange tampon préparé)
Tampon amplificateur	1 µL	Plaqué de puits profonds à fond en U (mélange tampon préparé)
Eau sans ARNase	15 µL	Plaqué de puits profonds à fond en U (mélange tampon préparé)
Eau sans ARNase	50 µL	Plaqué de puits profonds à fond en U
Tampon MW1	170 µL	Plaqué de puits profonds à fond en U
Tampon MW2	340 µL	Plaqué de puits profonds à fond en U

\* Non fourni

### 10.2.2 Volumes de réactif pour le KingFisher et le PurePrep

Tableau 4. Volumes de réactif KingFisher		
Réactif	Volume par échantillon	Plaque
Réactif de liaison MagMax	265 µL	Plaque 96 puits profonds KingFisher (plaque d'échantillon)
Billes de liaison d'acide nucléique total MagMax	10 µL	Plaque 96 puits profonds KingFisher (plaque d'échantillon)
Protéinase K MagMax	5 µL	Plaque 96 puits profonds KingFisher (plaque d'échantillon)
Tampon de lavage MagMax	500 µL	Plaque 96 puits profonds KingFisher
Solution de lavage 2* (80 % éthanol)	500 µL	Plaque 96 puits profonds KingFisher
Solution de lavage 3* (80 % éthanol)	250 µL	Plaque 96 puits profonds KingFisher
Solution d'élution MagMax	50 µL	Microplaque 96 200 µL KingFisher

\* Non fourni

Tableau 5. Volumes de réactif PurePrep 96		
Réactif	Volume par échantillon	Plaque
Tampon Lyse PA1 Molgen	200 µL	Plaque puits profonds 2 mL PurePrep (plaque d'échantillon)
Solution Poly-A-ARN 2,5 mg/mL Molgen	1 µL	Plaque puits profonds 2 mL PurePrep (plaque d'échantillon)
Solution de protéinase K 20 mg/mL Molgen	10 µL	Plaque puits profonds 2 mL PurePrep (plaque d'échantillon)
Molgen MagSi-PA VII (billes magnétiques)	20 µL	Plaque puits profonds 2 mL PurePrep (plaque d'échantillon)
Tampon de liaison U1 Molgen	400 µL	Plaque puits profonds 2 mL PurePrep (plaque d'échantillon)
Tampon de lavage I Molgen	800 µL	Plaque puits profonds PurePrep 2 mL
Tampon de lavage I Molgen	800 µL	Plaque puits profonds PurePrep 2 mL
Tampon de lavage II Molgen	800 µL	Plaque puits profonds PurePrep 2 mL
Tampon d'élution Molgen	50 µL	Plaque d'élution 200 µL PurePrep 96

### 10.3 Internal Control (IC) (Contrôle interne (CI))

Le kit comprend un contrôle interne pour surveiller l'efficacité de l'extraction et l'inhibition de la qPCR. Le test de contrôle interne est fourni dans le mélange du test et amplifie l'ARN de contrôle interne (**VIOLET**). L'ARN de contrôle interne est dilué et traité selon les indications ci-dessous pour les instruments d'extraction spécifiques. La matrice de contrôle interne est donc co-extraite avec l'échantillon et co-amplifiée dans la réaction.

#### 10.3.1 Contrôle interne sur le MagNA Pure 96, le KingFisher Flex et le PurePrep 96

Diluer l'ARN de contrôle interne (**VIOLET**) au 1/100 dans un PBS (**Tableau 6**). Ajuster le volume selon les besoins en utilisant le même facteur de dilution (consulter le manuel du kit d'extraction pour le volume minimum pour le nombre requis d'échantillons). L'ARN de contrôle interne dilué est chargé dans le tube de contrôle interne sur le MagNA Pure 96 et 20 µl sont automatiquement ajoutés à chaque échantillon (par défaut). Pour les extractions sur le PurePrep 96 et le KingFisher, 20 µL de l'ARN de contrôle interne dilué sont manuellement ajoutés à la plaque d'échantillon.

**Remarque :** NE PAS stocker l'ARN de contrôle interne dilué

Tableau 6. Dilution de l'ARN de contrôle interne pour le MagNA Pure 96 (dilution au 1/100)			
ARN de contrôle interne (VIOLET) (µL)	PBS 1x (µL)	Volume total (µL)	Volume ajouté à l'échantillon (µL)
36	3564	3600	20

#### 10.4 Préparation de la PCR en temps réel

**Remarque :** avant d'utiliser les réactifs, les décongeler complètement et les mélanger soigneusement par un bref passage au vortex.

Le kit *PlexPCR*<sup>®</sup> SARS-CoV-2 est testé avec un volume final de 10 µL dans des plaques de 96 or 384 puits sur le the LC480 II ; un volume final de 10 µL dans des plaques de 96 puits sur le CFX96 Dx et CFX96 Touch. Le kit *PlexPCR*<sup>®</sup> SARS-CoV-2 possède suffisamment d'espace mort pour une utilisation avec les systèmes de manipulation des liquides et ont été validés avec le SpeedX *PlexPrep*<sup>™</sup>. Contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour obtenir une aide avec les protocoles.

Consulter le **Tableau 1** - pour une description du contenu du kit.

##### 10.4.1 Préparation du mélange de solution-mère

- Pour un volume de réaction de 10 µL, 7,5 µL de mélange de solution-mère et 2,5 µL d'extrait sont requis. Préparer le mélange de solution-mère comme décrit dans le **Tableau 7**. Pipeter le mélange de solution-mère dans la plaque de PCR puis ajouter l'échantillon extrait à la réaction.
- Des contrôles positifs et négatifs doivent être effectués sur chaque plaque.
- Sceller la plaque, la centrifuger et la transférer au thermocycleur.

Tableau 7. Mélange de solution-mère		
Réactif	Concentration	Volume par réaction de 10 µL (µL)
Eau exempte de nucléase (BLEU)	S.O.	1,7
Mélange de solution-mère <i>Plex</i> (VERT)	2x	5,0
SARS-CoV-2 Mix (MARRON)	20x	0,5
RTase (NEUTRE)	100x	0,1
Inhibiteur RNase (NOIR)	50x	0,2
Volume total (µL)		7,5
Ajouter un échantillon de 2,5 µL pour un volume final de 10 µL		

## 11 Programmation et analyse

Les **Sections 19 - 21** détaillent la programmation et l'analyse.

Le kit *PlexPCR*<sup>®</sup> utilise 3 canaux pour la détection du SARS-CoV-2 par l'intermédiaire du cadre ouvert de lecture (ORF1ab), des gènes d'ARN polymérase ARN-dépendante (RdRp) et du contrôle interne (**Tableau 8**).

Tableau 8. Canaux pour les cibles <i>PlexPCR</i> <sup>®</sup> SARS-CoV-2			
Instrument qPCR	ORF1ab	Gène RdRp	Contrôle interne
LC480 II	465-510	533-580	533-610
CFX96 Dx et CFX96 Touch	FAM	HEX	Texas Red

## 12 Interprétation des résultats

L'interprétation des données peut être effectuée en utilisant les logiciels intégrés LC480 II, CFX96™ Dx et CFX96™ Touch ou le logiciel d'analyse **PlexPCR**® SARS-CoV-2. Le logiciel d'analyse **PlexPCR**® SARS-CoV-2 automatise l'interprétation des données des résultats d'amplification et rationalise le flux de travail. Des instructions sur l'utilisation du logiciel d'analyse sont fournies dans la **Section 21**.

Voir le **Tableau 9** pour le logiciel d'analyse approprié pour chaque instrument de PCR en temps réel. Le logiciel d'analyse peut être fourni sur demande. Contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour de plus amples informations.

Réf.	Logiciel d'analyse*	Instrument de PCR en temps réel
99021	<b>PlexPCR</b> ® SARS-CoV-2 (LC480)	LC480 II
99022	<b>PlexPCR</b> ® SARS-CoV-2 (CFX)	CFX96 Dx et CFX96 Touch

\* Consulter le site Web <https://plexpcr.com/products/respiratory-infections/plexpcr-sars-cov-2/> pour s'assurer d'utiliser la toute dernière version du logiciel d'analyse.

## 13 Limitations

- Le test **PlexPCR**® SARS-CoV-2 ne doit être effectué que par du personnel formé et conformément au présent mode d'emploi.
- La fiabilité des résultats dépend du respect des procédures de prélèvement, de transport, de stockage et de traitement des échantillons. Le non-respect des procédures adéquates à chacune de ces étapes risque d'entraîner des résultats erronés.
- Le test **PlexPCR**® SARS-CoV-2 est un test qualitatif et ne fournit aucune valeur quantitative ni aucune information à propos de la charge dans l'organisme.
- Les résultats du test doivent être corrélés avec l'historique clinique, les données épidémiologiques, les données de laboratoire et toutes les autres données à la disposition du clinicien.
- La prévalence des cibles virales affecte les valeurs prédictives positives et négatives du test.
- Les résultats négatifs n'excluent pas la possibilité d'infection imputable à un prélèvement incorrect d'échantillons, une erreur technique, la présence d'inhibiteurs, une confusion d'échantillons ou un faible nombre d'organismes dans l'échantillon clinique.
- Les résultats faussement positifs peuvent survenir suite à une contamination croisée par des organismes cibles, leurs acides nucléiques ou un produit amplifié.

Les échantillons cliniques avec une valeur Cq < 3 sont susceptibles de fournir un résultat non valide. Ces échantillons seront signalés par le logiciel d'analyse **PlexPCR**® SARS-CoV-2 par le message suivant : « Error: Abnormal change in fluorescence level » (Erreur : changement anormal du niveau de fluorescence). Cela indique un échantillon SARS-CoV-2 dont la charge virale est élevée et supérieure à limite de détection ; ces échantillons doivent être dilués et répétés.

Ces échantillons seront signalés lors de l'analyse avec le logiciel intégré LC480 II par le message suivant : « Some samples exceed the noiseband value in the background calculation region » (Certains échantillons dépassent la valeur seuil dans les paramètres de base). Cela indique un échantillon SARS-CoV-2 dont la charge virale est élevée et supérieure à limite de détection ; ces échantillons doivent être dilués et répétés.

Si la charge virale des échantillons cliniques est élevée, ils peuvent apparaître comme non valides. Cela n'est pas signalé par le logiciel CFX intégré, par conséquent l'utilisateur doit vérifier toutes les courbes avant de continuer. Lorsque la charge virale d'un échantillon SARS-CoV-2 est élevée et dépasse la limite de détection, les échantillons doivent être dilués et répétés.

## 14 Contrôle de qualité

Le kit **PlexPCR**® SARS-CoV-2 comprend un internal control (contrôle interne) pour surveiller l'efficacité de l'extraction et l'inhibition de la qPCR (**Section 10.3**).

Le contrôle positif d'écouvillon REDx™ FLOQ SARS-CoV-2 (Microbix, réf. RED-S-19-01) est recommandé en tant que matériel de contrôle positif pour l'amplification d'acide nucléique. Voir la **Section 15** pour les consignes d'utilisation du contrôle positif d'écouvillon REDx™ FLOQ SARS-CoV-2. Il est recommandé d'utiliser un échantillon négatif connu comme contrôle négatif.

## 15 Consignes d'utilisation du contrôle positif REDx™ FLOQ SARS-CoV-2

Le contrôle positif d'écouvillon REDx™ FLOQ SARS-CoV-2 (Microbix, réf. RED-S-19-01) contient un matériel de contrôle positif pour le SARS-CoV-2.

Le contrôle positif REDx™ SARS-CoV-2 doit être stocké dans une plage de températures de 2 à 8°C jusqu'à son utilisation. Une fois ouvert, le contrôle positif REDx™ SARS-CoV-2 ne doit pas être réutilisé.

Voir la notice du contrôle positif REDx™ SARS-CoV-2 pour des informations supplémentaires sur le stockage et les limitations.

### 15.1 Mode d'emploi

Diluer le contrôle positif REDx™ SARS-CoV-2 dans 3 mL de milieu de transport universel (UTM) ou milieu de transport viral (VTM).

Préparer les réactions qPCR conformément à la **Section 10.4** en utilisant le matériel de contrôle positif en guise d'échantillon.

## 16 Caractéristiques de performance

### 16.1 Performance clinique

#### 16.1.1 Étude clinique 1

Une étude clinique rétrospective a été réalisée dans le laboratoire du Queensland Paediatric Infectious Diseases (QPID), South Brisbane, Queensland, Australie, sur des échantillons d'écouvillons nasopharyngés archivés (n=165), précédemment testés avec le test Abbott m2000 SARS-CoV-2. Les échantillons ont été extraits sur la plateforme d'extraction MagNA Pure 96 (Roche) en utilisant le protocole Pathogen Universal 200. 200 µL d'échantillon ont été extraits et élués dans 50 µL. Les échantillons ont été testés avec le kit **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 dans des réactions de 10 µL sur le LightCycler 480 II.

Une approche de résultat de référence composite a été utilisée en guise de méthode de référence pour le test **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2. Les résultats de deux tests PCR SARS-CoV-2 validés (test Abbott m2000 SARS-CoV-2 et kit fluorescent en temps réel RT-PCR pour la détection du SARS-CoV-2 (BGI)) ont été analysés et les échantillons produisant des résultats concordants dans les deux tests ont été considérés comme étant positifs ou négatifs pour le SARS-CoV-2. Le diagnostic SARS-COV-2 des échantillons produisant des résultats non concordants entre les deux tests de comparaison (n=22) n'a pas pu être irrévocablement établi et ces échantillons ont été exclus de l'analyse finale. Les pourcentages de concordance positive et négative entre **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 et la référence composite sont affichés dans le **Tableau 10**.

Tableau 10. Évaluation clinique du kit <b>PlexPCR</b> <sup>®</sup> SARS-CoV-2			
		Résultat de référence composite (n=142)	
		SARS-CoV-2	
		Positif	Négatif
<b>PlexPCR</b> <sup>®</sup> SARS-CoV-2 <sup>1</sup>	Positif	83	2
	Négatif	6	51
<b>Pourcentage de concordance positive (PPA)</b>		93,26 % (IC 95 % 85,90 – 97,49 %)	
<b>Pourcentage de concordance négative (NPA)</b>		96,23 % (IC 95 % 87,02 – 99,54 %)	
<b>Pourcentage de concordance globale (ORA)</b>		94,37 % (IC 95 % 89,20 – 97,54 %)	

<sup>1</sup> Un échantillon du test **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 s'est avéré non valide à plusieurs reprises et n'a pas pu être évalué.

### 16.2 Performance analytique

#### 16.2.1 Répétabilité et reproductibilité

##### 16.2.1.1 LightCycler<sup>®</sup> 480 Instrument II

Une étude de reproductibilité a été effectuée pour les lots, les opérateurs, les jours et les instruments LightCycler<sup>®</sup> 480 II pour le test **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2, en utilisant des panneaux préparés dans des échantillons nasopharyngés cliniques négatifs regroupés, recueillis par l'intermédiaire d'un milieu de transport viral. Les membres du panel se composaient d'une souche SARS-CoV-2 de référence, USA-WA1/2020 (ZeptoMetrix, NATtrol<sup>™</sup> SARS-CoV-2 Stock, réf. NATSARS(COV2)-ST), introduite dans des écouvillons nasopharyngés négatifs recueillis en milieu de transport viral à 5, 50 et 100 fois la limite de détection (LOD). Chaque panneau contenait six répliques de ces membres du panneau.

Le test a été effectué avec deux différents lots du mélange **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2. Les panneaux ont été testés deux fois par jour pendant trois jours non consécutifs par deux opérateurs pour obtenir un total de 36 observations par membre du panneau (6 répliques x 2 séries x 3 jours x 1 site = 36 observations).

La répétabilité et la reproductibilité totale ont été évaluées, entre lots, entre jours, entre instruments et entre opérateurs. Le pourcentage de concordance a été calculé pour chaque membre du panneau en fonction du résultat attendu dans le composant de détection du SARS-CoV-2 du test. Le pourcentage de coefficient de variation (% CV) a été calculé à partir de la valeur de quantification du cycle (C<sub>d</sub>) indiquée pour la détection de SARS-CoV-2. Les résultats des tests de répétabilité et de reproductibilité sont indiqués dans le **Tableau 11**.

**Tableau 11. Répétabilité/reproductibilité du composant de détection du SARS-CoV-2 du test *PlexPCR*® SARS-CoV-2 sur le LightCycler® 480 Instrument II**

SARS-CoV-2 – ORF1ab										
			Intra-série		Entre séries		Entre lots		Total	
Membre du panneau	N	c <sub>q</sub> moyen	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV
100 x LOD	36	18,6	0,52	2,8	0,31	1,7	0,51	2,7	0,5	2,7
50 x LOD	36	19,4	0,53	2,7	0,28	1,5	0,58	3	0,52	2,7
5 x LOD	36	22,6	0,91	4	0,53	2,3	0,84	3,7	0,98	4,3
SARS-CoV-2 – RdRp										
			Intra-série		Entre séries		Entre lots		Total	
Identifiant échantillon	N	c <sub>q</sub> moyen	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV
100 x LOD	36	19,1	0,4	2,1	0,24	1,3	0,31	1,6	0,36	1,9
50 x LOD	36	19,9	0,41	2,1	0,19	1	0,36	1,8	0,36	1,8
5 x LOD	36	23,2	0,51	2,2	0,31	1,3	0,39	1,7	0,57	2,5
Contrôle interne										
			Intra-série		Entre séries		Entre lots		Total	
Identifiant échantillon	N	c <sub>q</sub> moyen	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV
100 x LOD	36	19,3	0,36	1,9	0,45	2,3	0,3	1,6	0,51	2,6
50 x LOD	36	19,5	0,42	2,2	0,41	2,1	0,4	1,8	0,52	2,7
5 x LOD	36	19,5	0,67	3,4	0,54	2,7	0,5	2,2	0,69	3,4
Négatif	36	20,4	0,35	1,7	0,93	4,6	0,2	0,8	0,89	4,4

#### 16.2.1.2 Systèmes de détection par PCR en temps réel CFX96™ Dx et CFX96 Touch™

Une étude de reproductibilité a été effectuée pour les lots, les opérateurs, les jours et les séries sur les systèmes de détection par PCR en temps réel CFX96™ pour le test *PlexPCR*® SARS-CoV-2, en utilisant des panneaux préparés dans des échantillons nasopharyngés cliniques négatifs regroupés, recueillis par l'intermédiaire d'un milieu de transport viral. Les membres du panel se composaient d'une souche SARS-CoV-2 de référence, USA-WA1/2020 (ZeptoMetrix, NATtrol™ SARS-CoV-2 Stock, réf. NATSARS(COV2)-ST), introduite dans des écouvillons nasopharyngés négatifs recueillis en milieu de transport viral à 5, 50 et 100 fois la limite de détection (LOD). Chaque panneau contenait six répliques de ces membres du panneau.

Le test a été effectué avec deux différents lots du mélange *PlexPCR*® SARS-CoV-2. Les panneaux ont été testés trois fois par jour pendant trois jours non consécutifs par deux opérateurs sur site pour obtenir un total de 108 observations par membre du panneau.

Les reproductibilités intra-série, entre série, entre lot, entre opérateur, entre instrument et totale ont été évaluées. Le pourcentage de concordance a été calculé pour chaque membre du panneau en fonction du résultat attendu dans le composant de détection du SARS-CoV-2 du test. Le pourcentage de coefficient de variation (% CV) a été calculé à partir de la valeur de quantification du cycle (C<sub>q</sub>) indiquée pour la détection de SARS-CoV-2. Les résultats des tests de répétabilité et de reproductibilité sont indiqués dans le **Tableau 12**.



**Tableau 12. Répétabilité/Reproductibilité du composant de détection du SARS-CoV-2 du test *PlexPCR*<sup>®</sup> SARS-CoV-2 sur le système de détection par PCR en temps réel CFX96 Touch<sup>™</sup>**

SARS-CoV-2 – ORF1ab														
			Intra-série		Entre séries		Entre lots		Entre opérateurs		Entre instruments		Total	
Membre du panneau	N	cq moyen	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV
100 x LOD	108	19,18	0,27	1,5	0,41	2,2	0,65	3,4	0,85	4,4	0,17	0,9	1,14	5,9
50 x LOD	108	20,20	0,05	0,2	0,42	2,1	0,67	3,3	0,82	4,0	0,13	0,6	1,18	5,9
5 x LOD	108	22,78	0,37	1,7	0,45	2,0	0,41	1,8	0,72	3,2	0,28	1,2	1,19	5,2
SARS-CoV-2 – RdRp														
			Intra-série		Entre séries		Entre lots		Entre opérateurs		Entre instruments		Total	
Identifiant échantillon	N	cq moyen	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV
100 x LOD	108	19,80	0,12	0,6	0,35	1,8	0,63	3,2	0,85	4,3	0,16	0,8	1,15	5,8
50 x LOD	108	20,73	0,22	1,1	0,22	1,1	0,67	3,2	0,85	4,1	0,18	0,9	1,23	5,9
5 x LOD	108	23,18	0,39	1,7	0,24	1,0	0,53	2,3	0,61	2,6	0,07	0,3	1,09	4,7
Contrôle interne														
			Intra-série		Entre séries		Entre lots		Entre opérateurs		Entre instruments		Total	
Identifiant échantillon	N	cq moyen	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV
100 x LOD	108	20,34	0,24	1,2	0,51	2,5	0,28	1,4	0,23	1,1	0,06	0,3	0,79	3,9
50 x LOD	108	20,75	0,29	1,4	0,75	3,6	0,20	0,9	0,18	0,9	0,01	0,0	0,74	3,6
5 x LOD	108	20,98	0,26	1,2	0,76	3,6	0,11	0,5	0,12	0,6	0,05	0,2	0,69	3,3
Négatif	108	21,32	0,22	1,0	0,80	3,7	0,10	0,4	0,14	0,6	0,04	0,2	1,01	4,8

## 16.2.2 Sensibilité analytique

### 16.2.2.1 LightCycler<sup>®</sup> 480 Instrument II

La souche SARS-CoV-2 USA-WA1/2020 (ZeptoMetrix, NATtrol<sup>™</sup> SARS-CoV-2 Stock, réf. NATSARS(COV2)-ST) a été utilisée en guise de souche représentative pour évaluer la limite de détection (LoD) du test *PlexPCR*<sup>®</sup> SARS-CoV-2 sur le LightCycler<sup>®</sup> 480 Instrument II. Les préparations quantifiées du matériel de référence positif du SARS-CoV-2 ont été diluées en série dans des écouvillons nasopharyngés négatifs en milieu de transport viral. Au total, 7 niveaux de concentration ont été testés au cours de plusieurs journées en utilisant 2 lots indépendants de réactifs de test *PlexPCR*<sup>®</sup> SARS-CoV-2 pour un total de 40 répliques par concentration. La LoD a été déterminée en utilisant l'analyse de régression logistique (modèle de Probit) et comme étant la concentration la plus faible (exprimée en copies/mL) générant un minimum de  $\geq 95\%$  de répliques positives.

La valeur LoD (déterminée à partir des données indiquées dans le **Tableau 13**) était 764 copies/mL (IC 95 % : 565,69 – 1193,50 copies/mL).

Tableau 13. LoD du test *PlexPCR*<sup>®</sup> SARS-CoV-2<sup>†</sup>

Matériel de référence positif	Souche	Concentration SARS-CoV-2 (génomés par mL)	Résultat <i>PlexPCR</i> <sup>®</sup> SARS-CoV-2		
			Positif	Total	% positif
SARS-CoV-2	USA-WA1/2020	2500	40	40	100,00
		1875	40	40	100,00
		1250	40	40	100,00
		625	36	40	90,00
		313	27	38*	71,05
		156	22	40	55,00
		78	10	40	25,00

<sup>†</sup> Une sensibilité analytique équivalente a été obtenue en utilisant les systèmes CFX96 et CFX384

\* pour la concentration 312,5 copies/mL, 2 répliques ont été signalées comme non valides par le logiciel d'analyse à cause de l'échec du CI. Les répliques ont été exclues de l'analyse.

#### 16.2.2.2 Flux de travail avec le MGISP-960 et le LightCycler<sup>®</sup> 480 Instrument II

Une étude a été effectuée dans le laboratoire Queensland Paediatric Infectious Diseases (QPID), South Brisbane, Queensland, pour démontrer que la performance analytique du test *PlexPCR*<sup>®</sup> SARS-CoV-2, lorsque les échantillons sont extraits en utilisant l'instrument MGISP-960 (MGI) avec le kit d'extraction d'acide nucléique MGIEasy (PID : 1000020471 ; MGI), est équivalente à la performance analytique du test lorsque les échantillons sont extraits en utilisant l'instrument MagNa Pure 96 (MP96) avec le MagNA Pure 96 DNA et le Viral NA Small Volume Kit (PID : 06543588001 ; Roche). Le matériel de référence négatif consistait en des écouvillons nasopharyngés (NP) négatifs regroupés dans un milieu de transport viral (VTM), prélevés sur des individus négatifs au SARS-CoV-2 (**Modèle de diagnostic moléculaire de la COVID-19 ayant obtenu l'autorisation d'utilisation en urgence de la FDA pour les fabricants commerciaux**). Le matériel de référence positif consistait en la souche USA-WA1/2020 du SARS-CoV-2 (ZeptoMetrix, NATrol<sup>™</sup> SARS-CoV-2 Stock, réf. NATSARS(COV2)-ST) enrichie à 2 fois la LOD dans une matrice négative.

Le pourcentage du taux de réussite des échantillons correctement identifiés a été calculé pour chaque kit d'extraction d'acide nucléique MGIEasy testé. La synthèse des résultats est présentée dans le **Tableau 14**. La valeur Cq moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation (%) de chaque cible (ORF1ab, RdRp et CI) pour chaque kit d'extraction sont indiqués dans le **Tableau 15**. L'IC est valide pour tous les échantillons. Le taux de réussite de chaque kit d'extraction d'acide nucléique MGIEasy était  $\geq 95$  % ce qui confirme la LOD du test *PlexPCR*<sup>®</sup> SARS-CoV-2 lorsqu'il est utilisé avec des échantillons extraits à l'aide de l'instrument MGISP-960 (MGI).

Tableau 14. Taux de réussite (%) des échantillons extraits avec le MGISP-960

Échantillons	Nombre total de répétitions	Kit d'extraction 1		Kit d'extraction 2	
		Nombre de répétitions correctement identifiées	Taux de réussite (%)	Nombre de répétitions correctement identifiées	Taux de réussite (%)
Échantillons positifs au SARS-CoV-2 (2 x LOD)	30	30	100	30	100
Échantillons négatifs au SARS-CoV-2	60	60	100	60	100

**Tableau 15. Tableau de synthèse pour les valeurs Cq moyennes, les écarts-types et les coefficients de variation (%) de toutes les cibles.**

	Lot d'extraction 1								
	ORF1ab (465-510)			RdRp (533-580)			CI (533-610)		
Type d'échantillon	Cq moyen	Écart type	% CV	Cq moyen	Écart type	% CV	Cq moyen	Écart type	% CV
Positive au SARS	21,06	0,34	1,61	22,19	0,39	1,76	21,38	0,32	1,51
Négatif au SARS	--	--	--	--	--	--	21,62	0,44	2,05
	Lot d'extraction 2								
	ORF1ab (465-510)			RdRp (533-580)			CI (533-610)		
Type d'échantillon	Cq moyen	Écart type	% CV	Cq moyen	Écart type	% CV	Cq moyen	Écart type	% CV
Positive au SARS	22,20	0,38	1,70	23,27	0,41	1,76	21,44	0,34	1,60
Négatif au SARS	--	--	--	--	--	--	21,87	0,23	1,03

### 16.2.3 Spécificité analytique

Un panneau de 20 micro-organismes, y compris des organismes souvent présents dans l'appareil respiratoire humain, ainsi que ceux très proches du SARS-CoV-2, a été évalué pour des signes de réaction croisée dans le test **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2. L'étude a été effectuée sur le LightCycler<sup>®</sup> 480 Instrument II. Le **Tableau 16** répertorie les organismes testés. Les organismes ont été testés à  $1 \times 10^6$  ufc/mL,  $1 \times 10^5$  ufp/mL ou  $10^5$  DICT<sub>50</sub> par mL, sauf indication contraire, toutes les dilutions étant préparées dans des écouvillons nasopharyngés négatifs en milieu de transport viral. Le test a été effectué en triple en l'absence de matériel de référence positif (SARS-CoV-2). Aucun signal positif n'a été généré dans le test **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2, dans aucune de ces expériences, en l'absence de cible, et aucun impact n'a été observé sur la performance du test en présence de concentrations élevées de n'importe quel micro-organisme testé.

Tableau 16. Micro-organismes testés pour réaction croisée	
Organismes	Concentration testée
Coronavirus humain 229E	5,00E+06 génomes/mL
Coronavirus humain OC43	5,00E+06 génomes/mL
Adénovirus 1	1,00E+05 DICT <sub>50</sub> /mL
Virus parainfluenza de type 3	1,00E+05 DICT <sub>50</sub> /mL
Virus influenza A	1,00E+05 UFP/mL
Virus influenza B	1,00E+05 UFP/mL
Entérovirus A71	1,00E+05 DICT <sub>50</sub> /mL
Virus respiratoire syncytial A	1,00E+05 UFP/mL
Rhinovirus 17	1,00E+05 DICT <sub>50</sub> /mL
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Haemophilus influenzae</i>	5,00E+06 génomes/mL
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Bordetella pertussis</i>	1,45E+05 génomes/mL
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1,00E+06 UFC/mL
Solution de lavage nasal humain mélangée	pur
<i>Candida albicans</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,00E+06 UFC/mL
<i>Streptococcus salivarius</i>	2,51E+08 génomes/mL

#### 16.2.4 Analyse *In silico*

Une analyse *In silico* a été effectuée pour évaluer le potentiel de réaction croisée des amorces et des sondes incluses dans le test **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 avec des coronavirus humains et non humains supplémentaires. Le test **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2 ne présentait aucune réaction croisée prévue avec les séquences non-coronavirus ou celles d'autres coronavirus humains sur la base d'un seuil d'homologie > à 80 %.

##### Spécificité contre les séquences non-coronavirus

Des séquences oligo de test ORF1ab et RdRp ont été utilisées pour rechercher des séquences non-coronavirus correspondant étroitement à la région cible, afin d'évaluer le potentiel de réaction croisée. Aucune réaction croisée significative avec des organismes non-coronavirus n'a été observée avec aucun oligo de test.

##### Spécificité contre les autres coronavirus

La série BLAST avec l'amplicon de test RdRp a produit 3 027 séquences de coronavirus. Lors de l'analyse avec la station CLC main workbench 20.0.4, les seules séquences pour lesquelles les oligos de test pouvaient se lier étaient les constituants du SARS-CoV-2 synthétique ainsi que deux séquences de coronavirus de chauve-souris (MN996532.1 et KP876546.1). Aucune réaction croisée avec d'autres séquences de coronavirus humain n'a par conséquent été observée.

La série BLAST avec l'amplicon de test ORF1 a produit 272 séquences de coronavirus. Lors de l'analyse avec la station CLC main workbench 20.0.4, les seules séquences pour lesquelles les oligos de test pouvaient se lier étaient les constituants du SARS-CoV-2 synthétique. Aucune réaction croisée avec d'autres séquences de coronavirus humain n'a par conséquent été observée.

#### 16.2.5 Inclusion

La base de données GISAID EpiCoV a été interrogée le 1er juin 2020. L'ensemble de données obtenu contenait des séquences du génome 24462 SARS-CoV-2 pour le test ORF1ab et le test RdRp.

Pour démontrer l'inclusion du test **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2, la base de données GISAID EpiCoV a été interrogée indépendamment avec chaque amorce et sonde d'oligonucléotide incluse dans le test. Moins de 0,2 % des séquences SARS-CoV-2 dans la base de données (n >24 000 au 1er juin 2020) possédait plus d'un mésappariement avec n'importe quelle amorce et sonde incluse dans le test **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2. Le suivi est constant pour garantir une inclusivité continue dans les souches actuelles et les variants signalés. Contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour de plus amples informations.

#### 16.2.6 Substances potentiellement interférentes

Des substances endogènes et exogènes potentiellement interférentes, susceptibles d'être présentes dans des échantillons respiratoires, ont été évaluées pour leur impact sur la performance du test **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2. L'étude a été effectuée sur le LightCycler<sup>®</sup> 480 Instrument II. Toutes les substances ont été testées en triple en utilisant des écouvillons nasopharyngés négatifs en milieu de transport viral, avec et sans la cible. Aucune preuve d'impact négatif sur la performance du test n'a été constatée lors du test d'échantillons modifiés contenant les interférents potentiels avec les concentrations indiquées. La synthèse des résultats est indiquée dans le **Tableau 17**.

Tableau 17. Substances potentiellement interférentes dans les échantillons respiratoires	
Interfèrent potentiel	Concentration test
Phényléphrine	15 % w/v
Dipropionate de béclométasone	5 % v/v
Zanamivir	3,3 mg/mL
Ribavirine	2 % w/v
Mupirocine	6,6 mg/mL
Tobramycine, antibiotique aminoglycosidique	4,4 µg/mL
Menthol	6,9 mg/mL

## 17 Service clients et assistance technique

Contactez l'assistance technique pour toute question relative à la configuration des réactions, aux conditions pour le cyclage et pour les autres demandes.

Tél. : +61 2 9209 4169, E-mail : [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au)

## 18 Références

1. Novel Coronavirus (2019-nCoV) Situation Report – 1, 21 janvier 2020. Organisation mondiale de la santé. Disponible sur : <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200121-sitrep-1-2019-ncov.pdf>.
2. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. Organisation mondiale de la santé. Disponible sur : [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it).
3. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University. Disponible sur : <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>.

**19 Annexe 1 : LightCycler® 480 Instrument II**

Les informations suivantes sont basées sur le logiciel LightCycler 480 (version 1.5).

Le kit **PlexPCR®** SARS-CoV-2 contient les colorants pour le LightCycler® 480 Instrument II. Le kit **PlexPCR®** Colour Compensation (réf. 90001) doit être traité et appliqué pour l'analyse LC480 II (voir la **Section 19.3**). Ce kit peut être fourni sur demande.

**19.1 Programmation du LightCycler® 480 Instrument II (LC480 II)**

**Format de détection**

Créer un **Format de détection** personnalisé

**Ouvrir Tools (Outils) > Detection Formats (Formats de détection)**

Créer un New Detection Format (Nouveau format de détection) et le nommer « **SpeedX PlexPCR** » [peut être accompli durant la création du fichier SpeedX Colour Compensation (Compensation de couleur)] (voir la **Figure 2**).

Pour **Filter Combination Selection** (Sélection de combinaisons de filtres), sélectionner les pages suivantes (excitation-émission) :

Tableau 18. Combinaisons de filtres*						
LC480 II	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	618-660

\* Ces combinaisons de filtres sont les noms par défaut des canaux

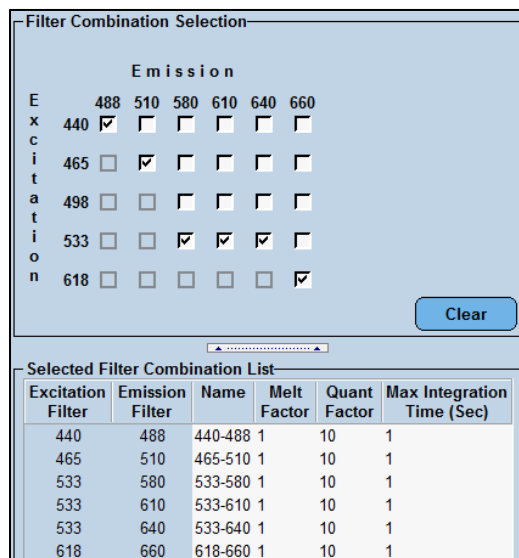
Régler **Selected Filter Combination List (Liste des combinaisons de filtres sélectionnées)** pour tous les canaux comme suit:

Melt Factor (Facteur de fusion) : 1

Quant Factor (Facteur de quantification) : 10

Max Integration Time (sec) (Temps d'intégration max (s)) : 1

**Figure 2. Format de détection SpeedX personnalisé**



## Paramètres de l'instrument

Créer un **Format de détection** personnalisé

Ouvrir **Tools (Outils) > Instruments**

Sous **Instrument Settings** (Paramètres de l'instrument) > sélectionner **Barcode Enabled** (Code-barre activé)

## Configuration expérimentale

Sélectionner **New Experiment** (Nouvelle expérience)

Dans l'onglet **Run Protocol** (Protocole de la série)

Sous **Detection Format** (Format de détection), sélectionner le « **SpeedX PlexPCR** » personnalisé (**Figure 3**)

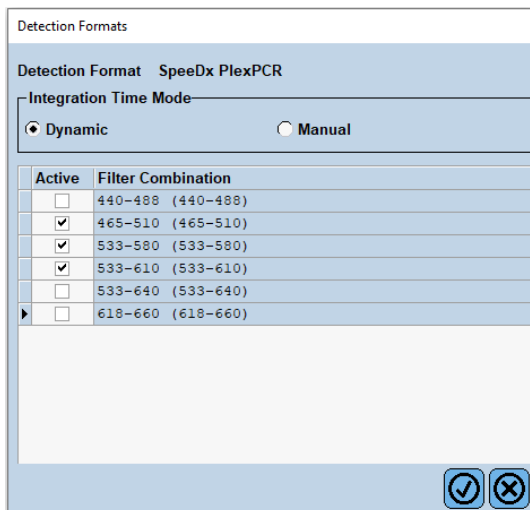
Sélectionner **Customize** (Personnaliser) >

Sélectionner **Integration Time Mode > Dynamic** (Mode Temps d'intégration > Dynamique)

Sélectionner les **Filter Combinations** (Combinaisons de filtres) actives, indiquées dans le **Tableau 19**

Tableau 19. Canaux pour les cibles <i>PlexPCR</i> <sup>®</sup> SARS-CoV-2			
Canal	465-510	533-580	533-610
SARS-CoV-2	ORF1ab	RdRp	Contrôle interne

Figure 3. Format de détection personnalisé



Active	Filter Combination
<input type="checkbox"/>	440-488 (440-488)
<input checked="" type="checkbox"/>	465-510 (465-510)
<input checked="" type="checkbox"/>	533-580 (533-580)
<input checked="" type="checkbox"/>	533-610 (533-610)
<input type="checkbox"/>	533-640 (533-640)
<input type="checkbox"/>	618-660 (618-660)

Pour permettre la détection automatisée de l'échantillon dans le logiciel d'analyse, assigner des étiquettes d'identification aux puits sur la plaque (voir la **Section 21.4**).

Ouvrir le module **Sample Editor** (Éditeur d'échantillon)

Sélectionner le puits

Modifier le **Sample Name** (Nom de l'échantillon) pour qu'il corresponde à l'étiquette d'identification définie dans le module Assays du logiciel d'analyse (voir la **Section 21.4**).













Les échantillons sont étiquetés sous la forme *Préfixe\_Suffixe* (comme présenté dans le **Tableau 20** et la **Figure 4**) p. ex. NEG\_CoV.

**REMARQUE** : les étiquettes d'identification des échantillons sont sensibles à la casse. L'étiquette d'identification doit correspondre exactement à celle assignée dans le fichier de série.



Tableau 20. Étiquettes d'identification d'échantillon pour le logiciel d'analyse			
Type d'échantillon	Préfixe_ (dans le logiciel d'analyse)	Suffixe_ (dans le logiciel d'analyse)	Dénomination de l'échantillon (dans le logiciel d'analyse)
Échantillon classique	Échantillon	_CoV	Sample_CoV
Contrôle négatif	N	_CoV	N_CoV
Contrôle positif	Pa	_CoV	Pa_CoV

Figure 4. Éditeur d'échantillon – Assignment d'étiquettes d'identification aux puits

Pos	Filter combination	Color	Repl Of	Sample Name
A12	465-510 (465-510)			S_MG
A12	533-580 (533-580)			S_MG
A12	533-640 (533-640)			S_MG
B12	465-510 (465-510)			Pa_MG
B12	533-580 (533-580)			Pa_MG
B12	533-640 (533-640)			Pa_MG
C12	465-510 (465-510)			Pb_MG
C12	533-580 (533-580)			Pb_MG
C12	533-640 (533-640)			Pb_MG
G8	465-510 (465-510)			N_MG
G8	533-580 (533-580)			N_MG
G8	533-640 (533-640)			N_MG

Régler **Reaction Volume (Volume de réaction)** > 10µL

Créer le programme suivant (présenté de manière plus détaillée de la **Figure 5** à la **Figure 9**).

Tableau 21. Thermocycling Program (Programme de thermocyclage)					
Program name (Nom du programme)	Cycles	Target °C (Cible °C)	Hold (Temps d'arrêt)	Ramp Rate (Vitesse de rampe) (°C/s)*	Ramp Rate (Vitesse de rampe) (°C/s)§
Reverse transcription (Transcription inverse)	1	48 °C	10 min	4,4	4,8
Polymerase activation (Activation de la polymérase)	1	95 °C	2 min	4,4	4,8
Touch down cycling (Cyclage Touchdown) <sup>§</sup> : Step down (Cyclage par essais : Incrément) -0,5 °C/cycle	10	95 °C	5 s	4,4	4,8
		61 °C – 56,5 °C <sup>§</sup>	30 s	2,2	2,5
Quantification cycling (Cyclage par quantification) <sup>+</sup> : Acquisition/Detection (Acquisition/Détection)	40	95 °C	5 s	4,4	4,8
		52 °C <sup>+</sup>	50 s	2,2	2,5
Cooling (Refroidissement)	1	40 °C	30 s	2,2	2,5

\* Vitesse de rampe par défaut (plaque 96 puits)

§ Vitesse de rampe par défaut (plaque à 384 puits)

§ Step size (incrément) : -0,5 °C/Cycle, Sec Target (Cible s) : 56 °C

+ Analysis mode (Mode d'analyse) : Quantification, Acquisition mode (Mode d'acquisition) : Single (Simple)

> Start Run (Démarrer la série)

Figure 5. Programme de thermocyclage - Transcription inverse

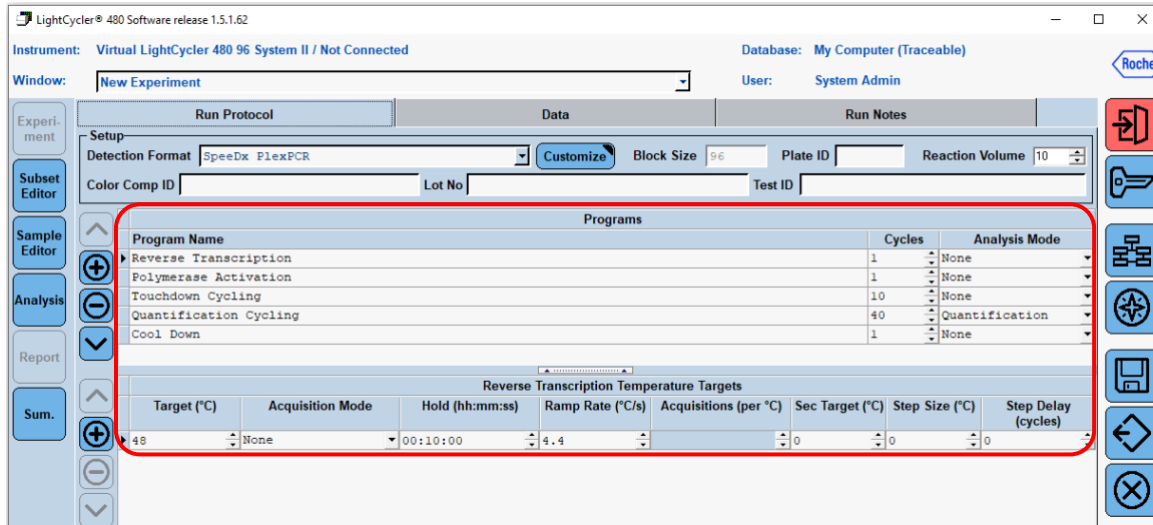


Figure 6. Programme de thermocyclage – Activation de la polymérase

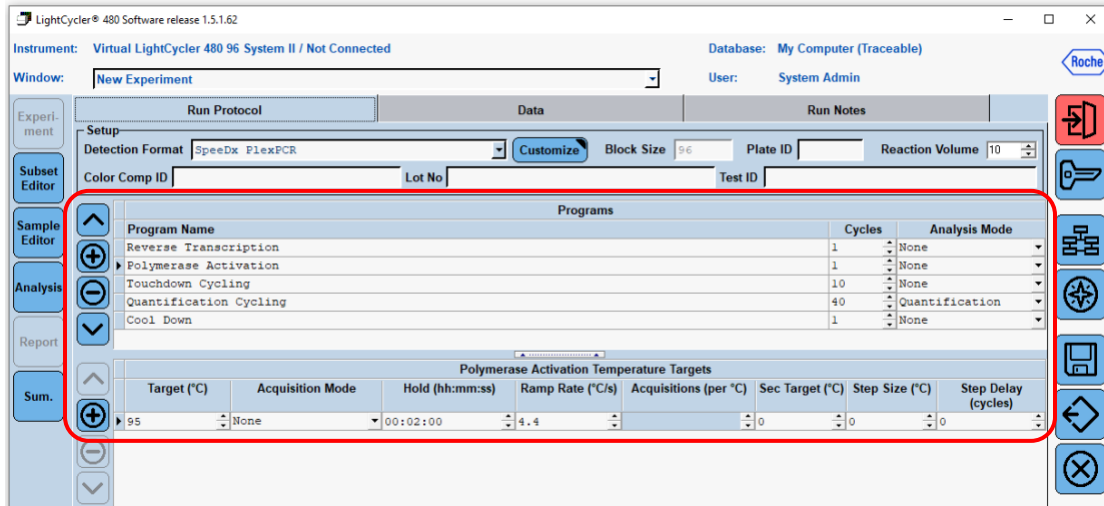


Figure 7. Programme de thermocyclage – Cyclage par essais

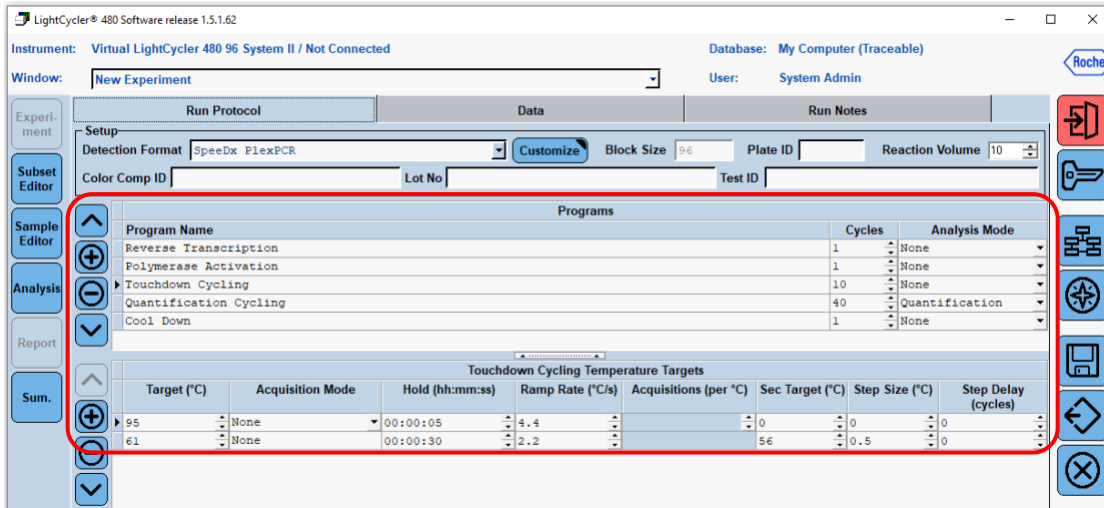


Figure 8. Programme de thermocyclage – Cyclage par quantification

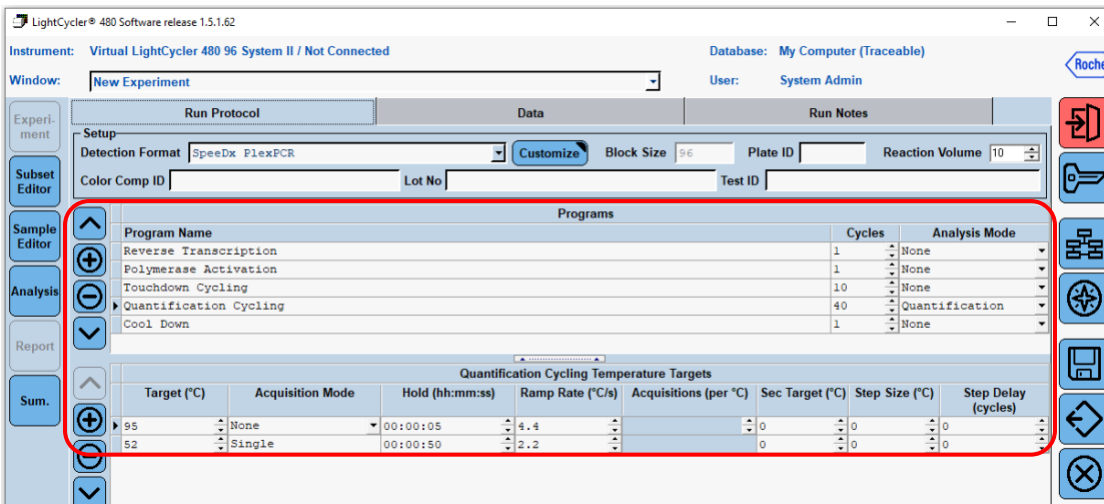
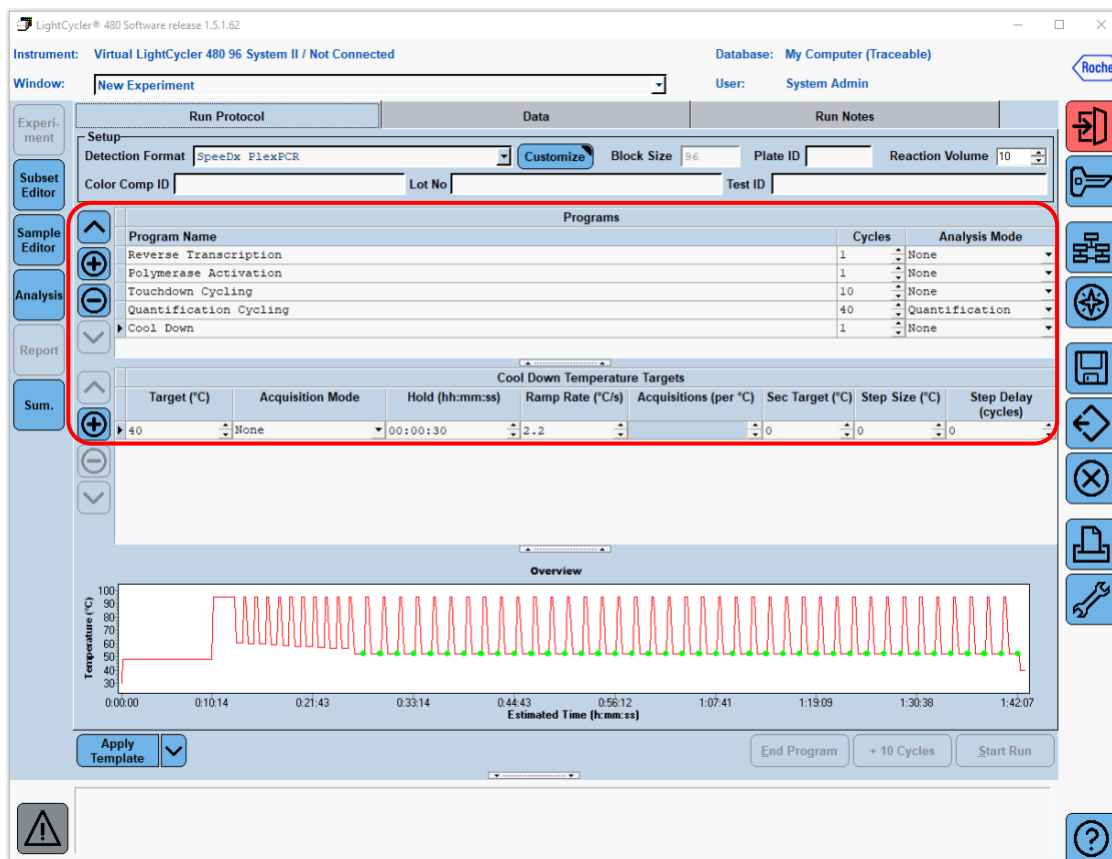


Figure 9. Programme de thermocyclage – Refroidissement



Une fois le programme de cyclage terminé, exporter un fichier .ixo pour une analyse dans le logiciel d'analyse **PlexPCR**® SARS-CoV-2 (LC480).

Sélectionner **Export** (Exporter)

Enregistrer dans un emplacement facilement identifiable.

## 19.2 Configuration d'un modèle macro pour le LightCycler® 480 Instrument II

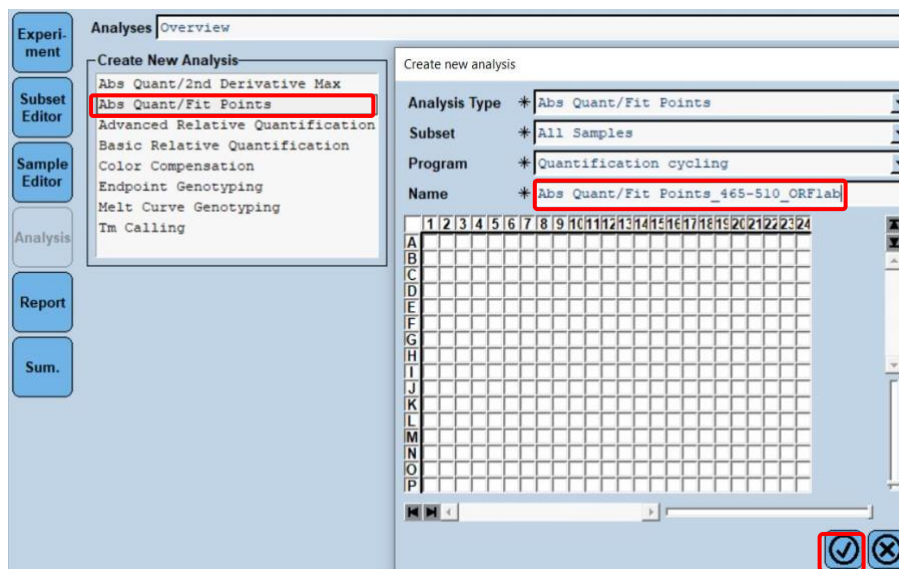
L'interprétation des données peut être effectuée en utilisant le logiciel intégré LC480 II et un modèle macro avec les paramètres valides indiqués ci-dessous. Pour une aide supplémentaire, veuillez contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au).

### Paramètres du modèle macro

Sélectionner un fichier de série avec les paramètres de **cyclage de PlexPCR de SpeedX**

Sélectionner **Analysis** (Analyse) > **Abs Quant/Fit Points** (Quantification absolue/Points ajustés) > modifier le nom en adoptant **Abs Quant/Fit Points\_465-510\_ORF1ab** > **Ok**

Figure 10. Abs Quant/Fit Points (Quantification absolue/Points ajustés) - 465-510 ORF1ab

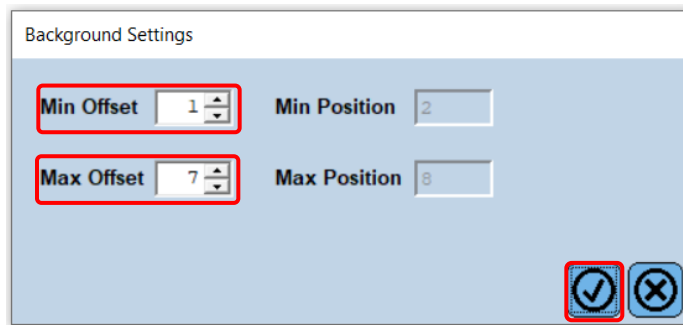


Sélectionner **Filter Comb 465 – 510**

Appliquer la **Color Compensation** (Compensation de couleur) pour tous les canaux > **Ok**

Sélectionner l'onglet **Cycle Range** (Plage du cycle) > **Background settings** (Paramètres de base) > Modifier **Min Offset** (écart minimal) et **Max Offset** (écart maximal) > **Ok**

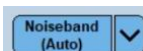
Figure 11. Background Settings (Paramètres de base) - 465-510 ORF1ab



Sélectionner l'onglet **Analysis** (Analyse) et sélectionner le paramètre suivant.

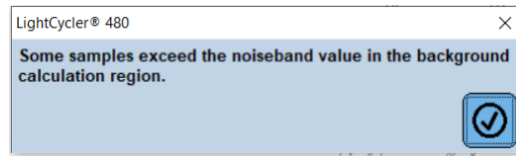


Sélectionner l'onglet **Noise Band** (Bande de bruit) et sélectionner le paramètre suivant.



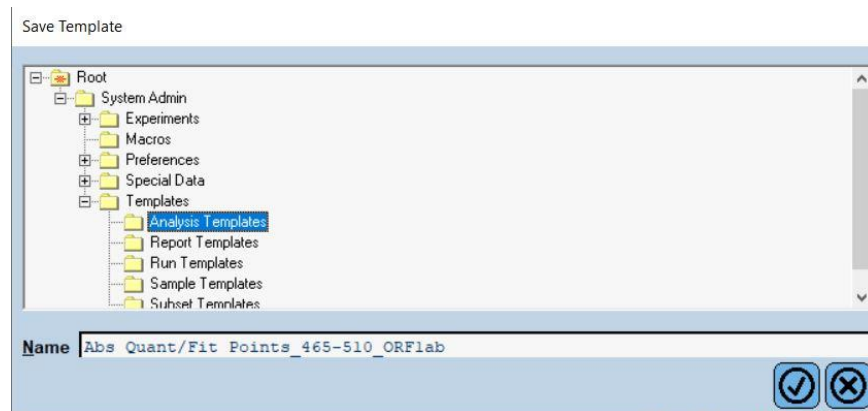
Cliquer sur **Calculate** (Calculer) [Si une courbe d'échantillonnage franchit les paramètres de base, le message suivant s'affiche (**Figure 12**) : « The user must dilute and re-test the sample (L'utilisateur doit diluer l'échantillon et le tester de nouveau) » > **Ok** pour continuer l'analyse.


Figure 12. Message d'avertissement de la bande de bruit




Sélectionner **Save As Template** (Enregistrer en tant que modèle) en utilisant le dossier **Templates** (Modèles) > **Analysis Templates** (Modèles d'analyse) et inclure le canal et la cible dans le nom > **Ok**.

Figure 13. Enregistrement de la Quantification absolue/Points ajustés du modèle d'analyse - 465-510 ORF1ab

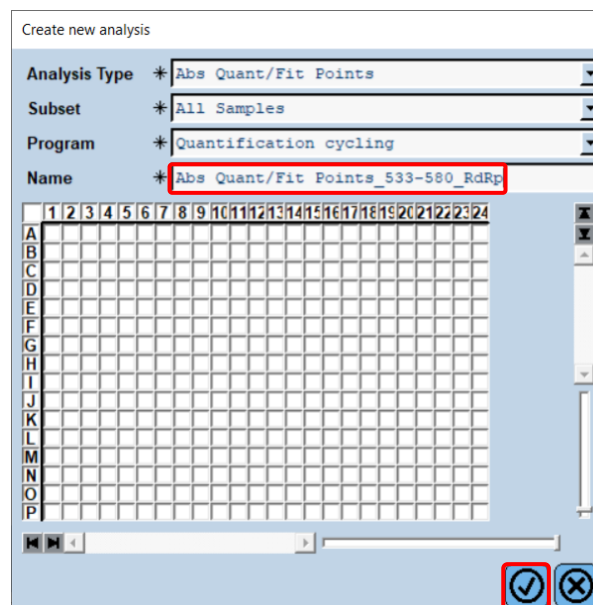


Cliquer sur l'icône  pour enregistrer les paramètres d'analyse configurés pour le canal.

Cliquer sur l'icône  pour créer une **nouvelle analyse**.

Sélectionner **Abs Quant/Fit Points** (Quantification absolue/Points ajustés) > modifier le nom en adoptant **Abs Quant/Fit Points\_533-580\_RdRp** > **Ok**

Figure 14. Abs Quant/Fit Points (Quantification absolue/Points ajustés) 533-580 RdRp

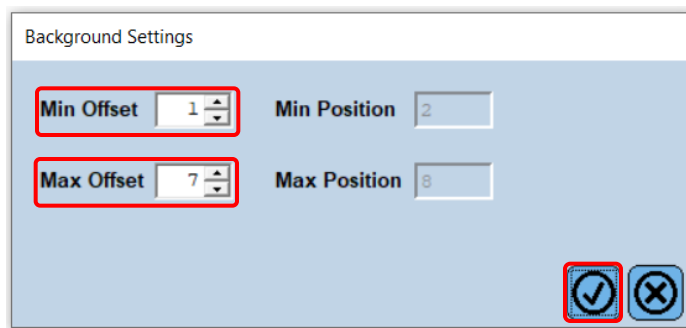


Sélectionner **Filter Comb 533 – 580**

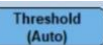
Appliquer la **Color Compensation** (Compensation de couleur) pour tous les canaux > **Ok**

Sélectionner l'onglet **Cycle Range** (Plage du cycle) > **Background settings** (Paramètres de base) > Modifier **Min Offset** (écart minimal) et **Max Offset** (écart maximal) > **Ok**

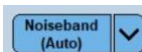
**Figure 15 Background Settings (Paramètres de base) - 533-6580 RdRp**



Sélectionner l'onglet **Analysis** (Analyse) et sélectionner le paramètre suivant.

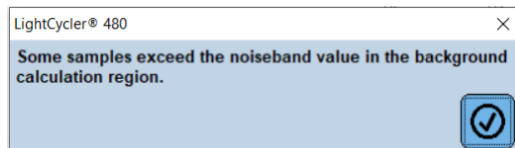


Sélectionner l'onglet **Noise Band** (Bande de bruit) et sélectionner le paramètre suivant.



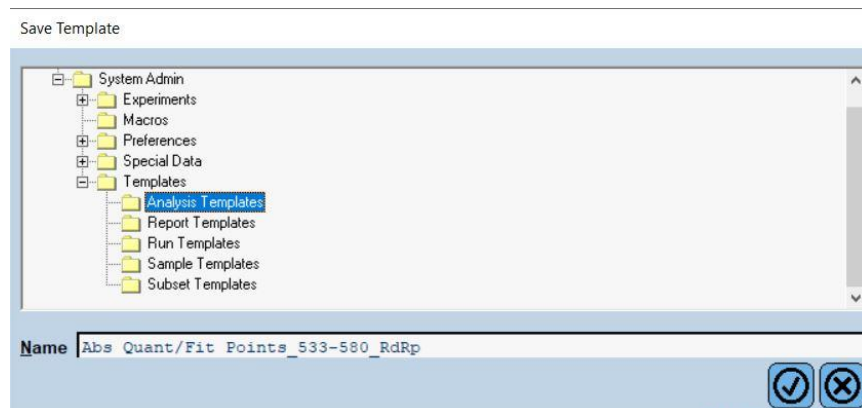
Cliquer sur **Calculate** (Calculer) [Si une courbe d'échantillonnage franchit les paramètres de base, le message suivant s'affiche (**Figure 16**) : « The user must dilute and re-test the sample (L'utilisateur doit diluer l'échantillon et le tester de nouveau)] > **Ok** pour continuer l'analyse.

**Figure 16. Message d'avertissement de la bande de bruit**



Sélectionner **Save As Template** (Enregistrer en tant que modèle) en utilisant le dossier **Templates** (Modèles) > **Analysis Templates** (Modèles d'analyse) et inclure le canal et la cible dans le nom > **Ok**.

**Figure 17. Enregistrement de la Quantification absolue/Points ajustés du modèle d'analyse - 533-580 RdRp**





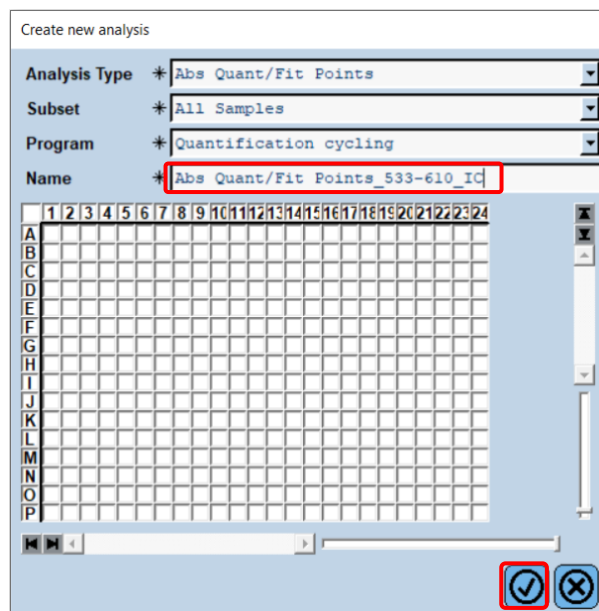
Cliquer sur l'icône pour enregistrer les paramètres d'analyse configurés pour le canal.



Cliquer sur l'icône pour créer une **nouvelle analyse**.

Sélectionner **Abs Quant/Fit Points** (Quantification absolue/Points ajustés) > modifier le nom en adoptant **Abs Quant/Fit Points\_533-580\_RdRp** > **Ok**

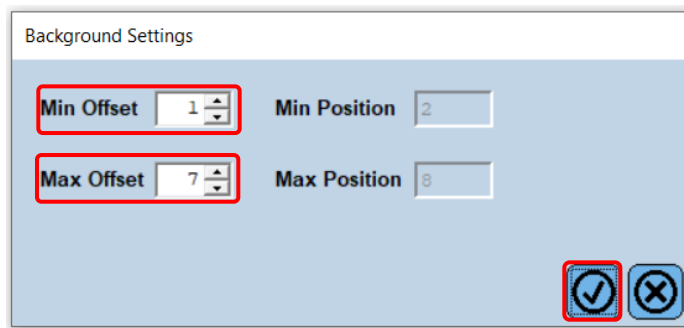
**Figure 18. Contrôle interne Quantification absolue/Points ajustés 533-610**



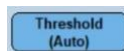
Sélectionner **Filter Comb 533 – 610**

Sélectionner l'onglet **Cycle Range** (Plage du cycle) > **Background settings** (Paramètres de base) > Modifier **Min Offset** (écart minimal) et **Max Offset** (écart maximal) > **Ok**

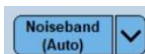
**Figure 19. Paramètres de base – 533-610 Contrôle interne**



Sélectionner l'onglet **Analysis** (Analyse) et sélectionner le paramètre suivant.



Sélectionner l'onglet **Noise Band** (Bande de bruit) et sélectionner le paramètre suivant.

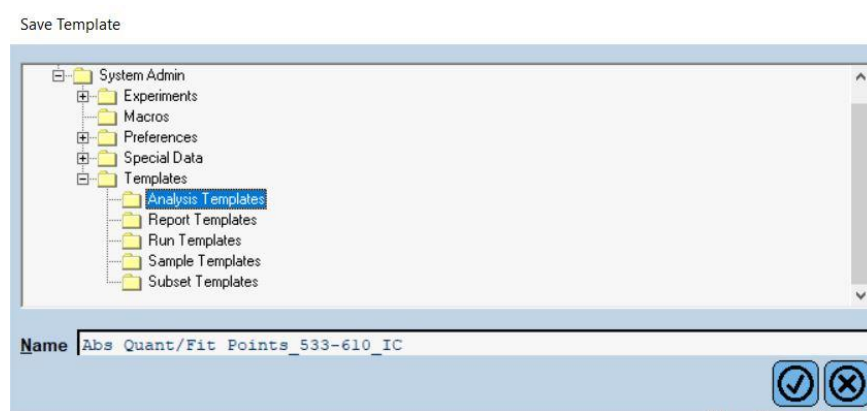


Cliquer sur **Calculate** (Calculer).



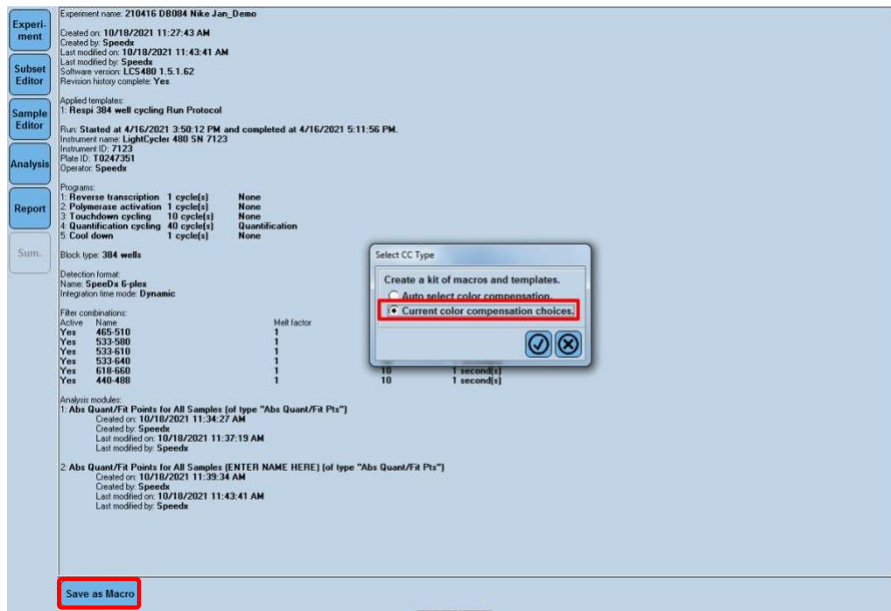
Sélectionner **Save As Template** (Enregistrer en tant que modèle) en utilisant le dossier **Templates** (Modèles) > **Analysis Templates** (Modèles d'analyse) et inclure le canal et la cible dans le nom > **Ok**.

**Figure 20. Enregistrement de la Quantification absolue/Points ajustés du modèle d'analyse - 533-610 Contrôle interne**



Sélectionner l'onglet **Summary** (Synthèse) > **Save As Macro** (Enregistrer en tant que macro) > **Current colour compensation choices** (Choix actuels de compensation de couleur).

**Figure 21. Choix du type de compensation de couleur**

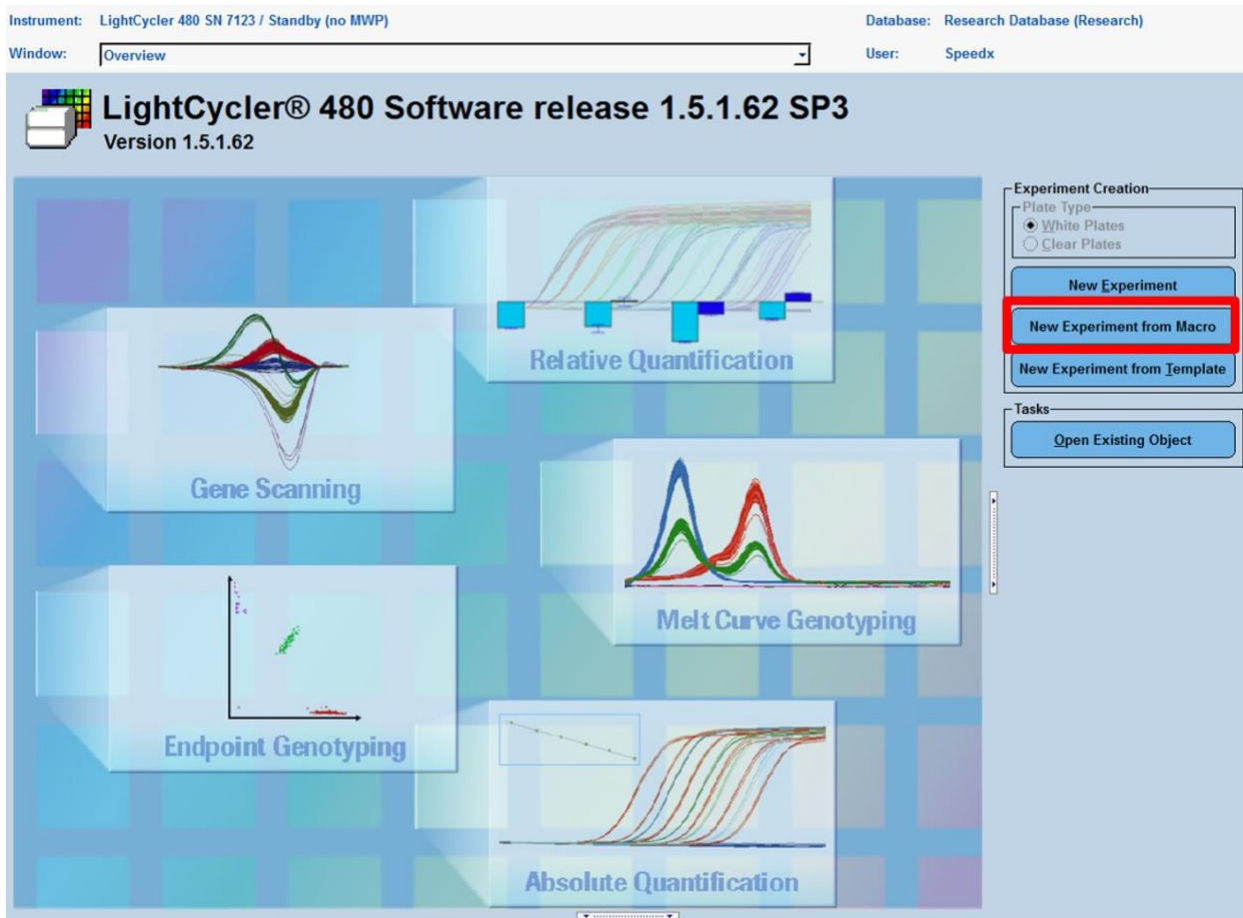


Ce **modèle de macro** peut désormais être sélectionné lors de la configuration d'un run.

**Configuration du modèle de macro**

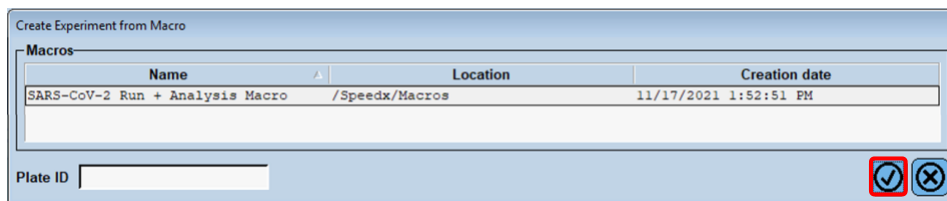
Sélectionner **New Experiment from Macro** (Nouvelle expérience à partir de la macro).

Figure 22. Choix d'une nouvelle expérience à partir de la macro



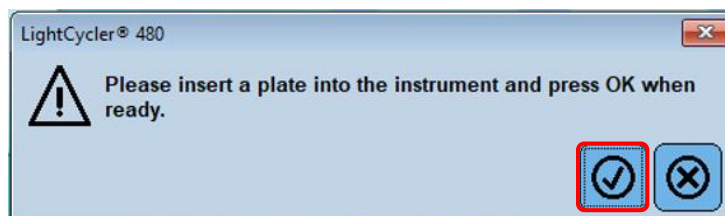
Sélectionner le fichier dans le dossier **Macros** > **Ok**.

Figure 23. Choix du modèle de macro



Insérer la plaque de PCR préparée lorsque l'invite suivante s'affiche > **Ok** et le run commence automatiquement.

Figure 24. Message pour l'insertion de la plaque



Continuer en utilisant l'**éditeur de sous-ensemble** et l'**éditeur d'échantillons** pour garantir un étiquetage approprié des résultats.

### 19.3 Colour Compensation (Compensation de couleur) pour LightCycler® 480 Instrument II

**Remarque** : le kit **PlexPCR®** Colour Compensation (Compensation de couleur) (réf. 90001) doit être traité et appliqué pour l'analyse de LC480 II. Ce kit peut être fourni sur demande.

Pour une analyse avec le logiciel, le Sample Name (Nom de l'échantillon) des réactions de Colour compensation (compensation de couleur) doit être étiqueté comme indiqué dans le **Tableau 22**.

Une fois le programme de cyclage terminé, exporter un fichier .ixo pour une analyse dans le logiciel d'analyse **PlexPCR®** SARS-CoV-2 (LC480).

Sélectionner **Export** (Exporter)

Enregistrer dans un emplacement facilement identifiable.

Tableau 22. Nom de l'échantillon pour les réactions de compensation de couleur pour le logiciel d'analyse							
Réactions							
	BLANC	488 mix (Mélange 488)	Mélange 510	580 mix (Mélange 580)	610 mix (Mélange 610)	640 mix (Mélange 640)	660 mix (Mélange 660)
Canal dominant	Eau	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	610-660
Nom de l'échantillon	BLANC	440-488	465-510	533-580	533-610	533-640	610-660

### 19.4 Interprétation des résultats

L'interprétation des données peut être effectuée en utilisant le logiciel intégré LC480 II ou le logiciel d'analyse **PlexPCR®** SARS-CoV-2 (LC480). Le logiciel d'analyse **PlexPCR®** SARS-CoV-2 (LC480) peut être fourni sur demande. Contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour de plus amples informations.

Pour l'interprétation des résultats sans le logiciel d'analyse **PlexPCR®** SARS-CoV-2 (LC480), chaque échantillon doit être analysé individuellement. Voir le **Tableau 23** pour l'interprétation des signaux produits par différentes combinaisons de filtres.

Tout Cp (point seuil) enregistré en deçà du seuil, avec confirmation visuelle de la courbe d'amplification, est un résultat positif (**Tableau 23**). Des exemples de courbe d'amplification sont illustrés dans la **Figure 25**.

**Remarque** : l'échantillon NTC (contrôle sans matrice) ne doit pas produire de signal dans aucun puits :

→ Le résultat est NON VALIDE et la PCR doit être RÉPÉTÉE.

#### Contrôle interne

Le contrôle interne surveille l'extraction et l'inhibition de la PCR. Le contrôle interne est valide si le canal 533-610 enregistre un Cp en-deçà du seuil (**Tableau 23**). Il est toutefois possible d'obtenir un signal positif pour tout test cible (ORF1ab ou RdRp) lorsque le contrôle interne est négatif. Pour ces échantillons, la présence de la cible est toujours interprétée comme un résultat valide.

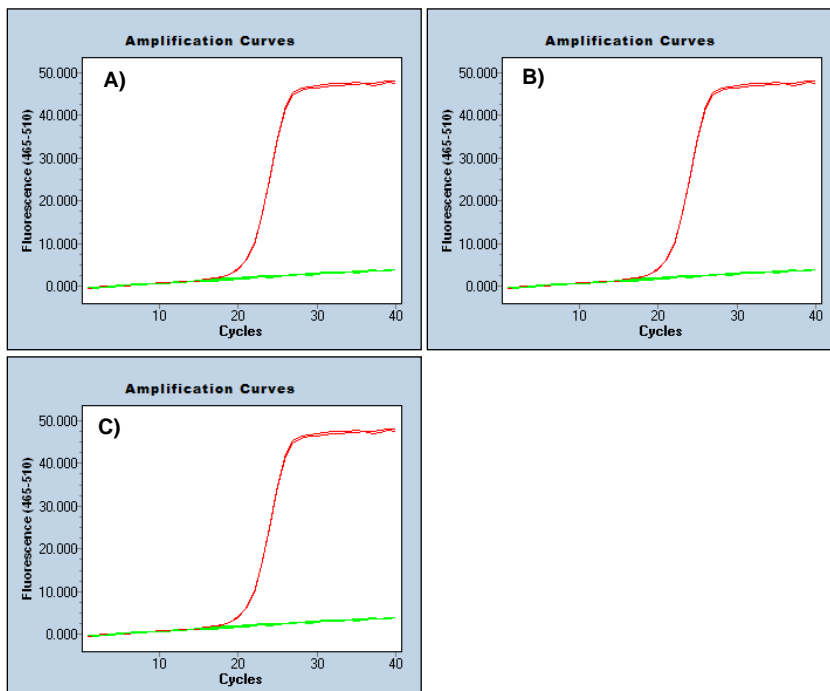
**Remarque** : Pour les échantillons pour lesquels les tests cibles sont négatifs et le test de contrôle interne est aussi négatif :

→ Le résultat n'est PAS VALIDE et l'extraction et la PCR doivent être RÉPÉTÉES.

Tableau 23. Interprétation des résultats (LC480 II)			
Interprétation	Cible		
	ORF1ab (465-510)	RdRp (533-580)	Contrôle interne (533-610) <sup>^</sup>
SARS-CoV-2 détecté.	< 31	S.O.	S.O.
SARS-CoV-2 détecté.	S.O.	< 31	S.O.
SARS-CoV-2 non détecté. CI valide.	≥ 31	≥ 31	≤ 26
CI non valide. Effectuer une nouvelle extraction et tester de nouveau l'échantillon.	≥ 31	≥ 31	≥ 26

<sup>^</sup>Si le contrôle interne est négatif mais le test cible est positif, le résultat reste valide.

Figure 25. Exemples de courbes d'amplification pour A) ORF1ab, B) RdRp, C) contrôle interne. Positif (rouge) et négatif (vert).



Voir Annexe A : Interprétation des résultats pour les consignes d'utilisation du logiciel d'analyse *PlexPCR*<sup>®</sup> SARS-CoV-2 (LC480).

## 20 Annexe 2 : systèmes de PCR en temps réel Bio-Rad CFX96™ Dx et CFX96 Touch™

Les informations suivantes sont basées sur un le logiciel CFX Manager Dx (Version 3.1).

Le kit **PlexPCR**® SARS-CoV-2 contient des colorants pour le système CFX96 Dx. Les étalonnages de coloration par défaut sont utilisés pour tous les canaux. Aucun étalonnage du client n'est requis.

### 20.1 Programmation des systèmes de détection par PCR en temps réel CFX96™ Dx et CFX96 Touch™ (CFX96 Dx, CFX96 Touch)

Sélectionner **View** (Afficher) > ouvrir **Run Setup** (Configuration série)

Dans **Run Setup** (Configuration série) > onglet **Protocol** (Protocole) > sélectionner **Create New** (Créer)

Dans **Protocol Editor** (Éditeur de protocole) (voir **Figure 26**):

Régler **Sample Volume** (Volume d'échantillon) > 10 µL

Créer le programme de thermocyclage suivant et l'enregistrer sous « **SpeedX PCR** ». Ce protocole peut être sélectionné pour de futures séries.

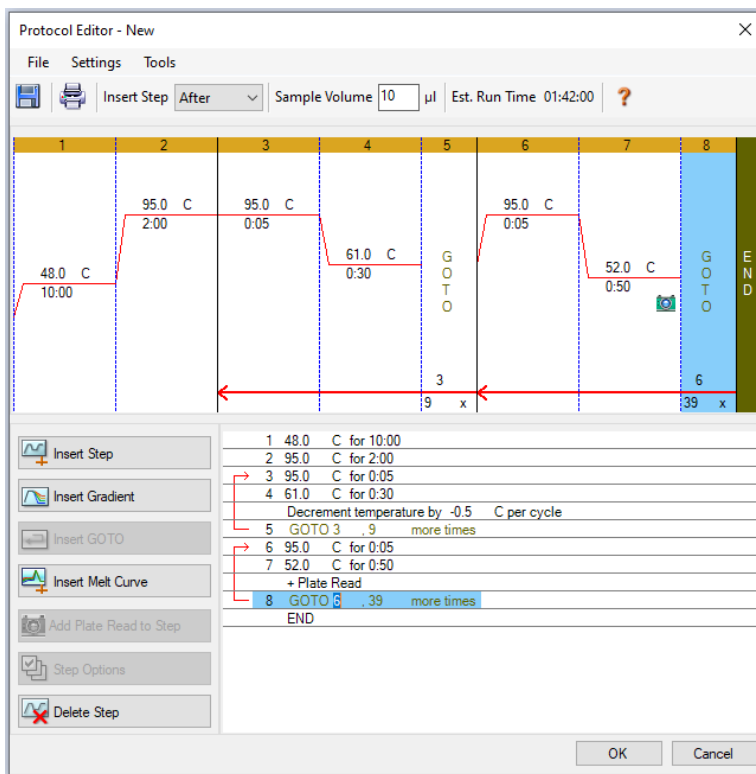
Pour le Touch down cycling (Cyclage Touchdown), sélectionner l'étape 3 puis **Step options** (Options d'étape) > Increment (Incrément) : -0,5 °C/cycle (présenté plus en détail dans la **Figure 27**).

Tableau 24. Thermocycling Program (Programme de thermocyclage)			
Program name (Nom du programme)	Cycles	Target °C (Cible °C)	Hold (Temps d'arrêt)
Reverse transcription (Transcription inverse)	1	48 °C	10 min
Polymerase activation (Activation de la polymérase)	1	95 °C	2 min
Touch down cycling (Cyclage Touchdown)* :	10	95 °C	5 s
Step down (Cyclage par essais : Incrément) -0,5 °C/cycle		61 °C – 56,5 °C <sup>5</sup>	30 s
Quantification cycling (Cyclage par quantification)* :	40	95 °C	5 s
Acquisition/Détection		52 °C <sup>+</sup>	50 s

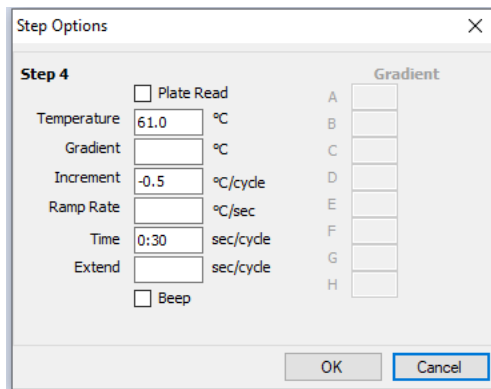
\* **Step options (Options d'étape)** > Increment (Incrément) : -0,5 C/cycle

<sup>+</sup> **Add Plate Read to Step (Ajouter lecture de plaque à l'étape)**

**Figure 26. Thermocycling Protocol (Prototype de thermocyclage) – Graphical view (Vue graphique)**



**Figure 27. Step Options (Options d'étape)**



Dans l'onglet **Run Setup** > **Plate** (Configuration série > Plaque)

Sélectionner **Create New** (Créer)

Sélectionner **Settings** (Paramètres) > **Plate Type** (Type de plaque) > sélectionner **BR Clear** (BR transparente)

Régler **Scan mode** (Mode balayage) > All channels (Tous les canaux)

**Select Fluorophores** (Sélectionner Fluorophores) > FAM, HEX, Texas Red (voir le **Tableau 25**)

Sélectionner les puits contenant des échantillons et assigner le **Sample Type** (Type d'échantillon), puis cocher **Load** (Charger) pour les fluorophores (FAM, HEX, Texas Red)

Enregistrer la plaque

Tableau 25. Canaux pour les cibles <i>PlexPCR</i> <sup>®</sup> SARS-CoV-2			
Canal	FAM	HEX	Texas Red
SARS-CoV-2	ORF1ab	RdRp	Contrôle interne

Dans **Run Setup** (Configuration série) > onglet **Start Run** (Lancer la série)

Sélectionner le bloc

**Start Run (Lancer la série)**

Pour permettre la détection automatisée de l'échantillon dans le logiciel d'analyse, assigner des étiquettes d'identification aux puits sur la plaque.

Ouvrir le module **Plate Setup** (Configuration plaque)

Sélectionner le puits

Modifier le **Sample Name** (Nom de l'échantillon) pour qu'il corresponde à l'étiquette d'identification définie dans le module **Assays** du logiciel d'analyse (voir la **Section 21.4**).

Les échantillons sont étiquetés sous la forme *Préfixe\_Suffixe* (comme présenté dans le **Tableau 26** et la **Figure 28**) p. ex. NEG\_CoV

**REMARQUE** : les étiquettes d'identification des échantillons sont sensibles à la casse. L'étiquette d'identification doit correspondre exactement à celle assignée dans le fichier de série.

Tableau 26. Étiquettes d'identification d'échantillon pour le logiciel d'analyse			
Type d'échantillon	Préfixe_ (dans le logiciel d'analyse)	Suffixe_ (dans le logiciel d'analyse)	Dénomination de l'échantillon (dans le logiciel d'analyse)
Échantillon classique	Échantillon	_CoV	Sample_CoV
Contrôle négatif	N	_CoV	N_CoV
Contrôle positif	Pa	_CoV	Pa_CoV

Figure 28. Sample Editor (Éditeur d'échantillons) – Assignment d'étiquettes d'identification aux puits

	1	2	3
A	Unk		
	FAM		
	HEX		
	Texas Red		
B	S-CoV		
	Unk		
	FAM		
	HEX		
C	Texas Red		
	P_CoV		
	Unk		
	FAM		
	HEX		
	Texas Red		
	N_CoV		

## 20.2 Interprétation des résultats avec le logiciel intégré CFX

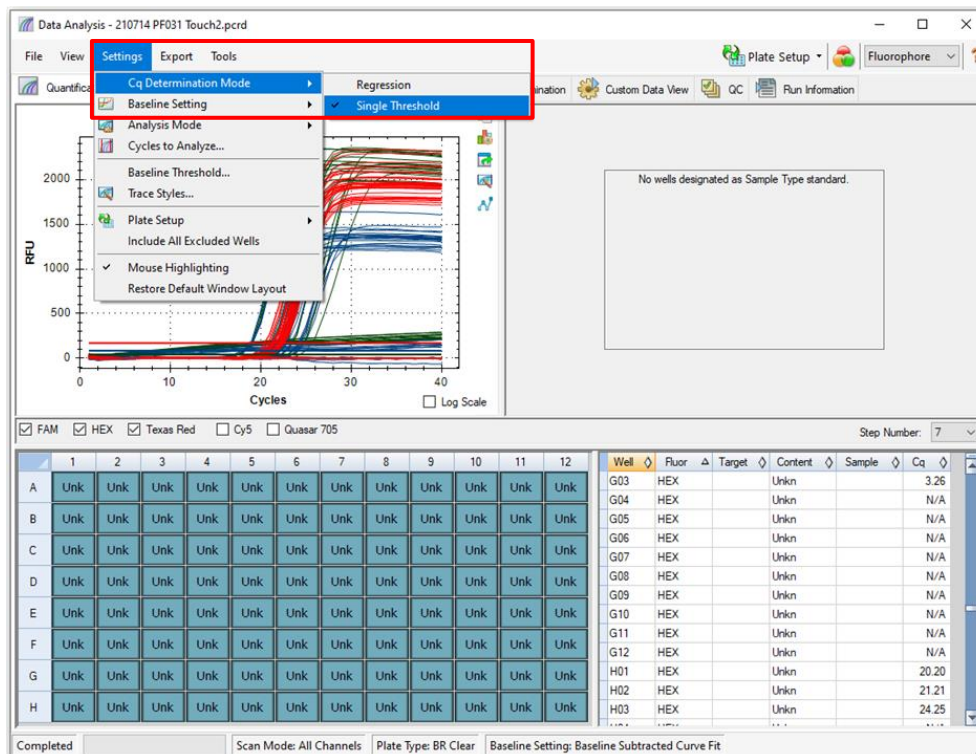
L'interprétation des données peut être effectuée en utilisant le logiciel intégré CFX et les paramètres validés indiqués ci-dessous. Pour une aide supplémentaire, veuillez contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au).

Sélectionner un fichier de run avec les paramètres de **cyclage du SpeedX PlexPCR**

Vérifier qu'aucun canal supplémentaire n'est sélectionné en dehors de ceux répertoriés dans le **Tableau 25**.

Cliquer sur **Settings** (Paramètres) > **Cq Determination Mode** (Mode de détermination Cq) et sélectionner **Single Threshold** (Seuil unique) (**Figure 29**)

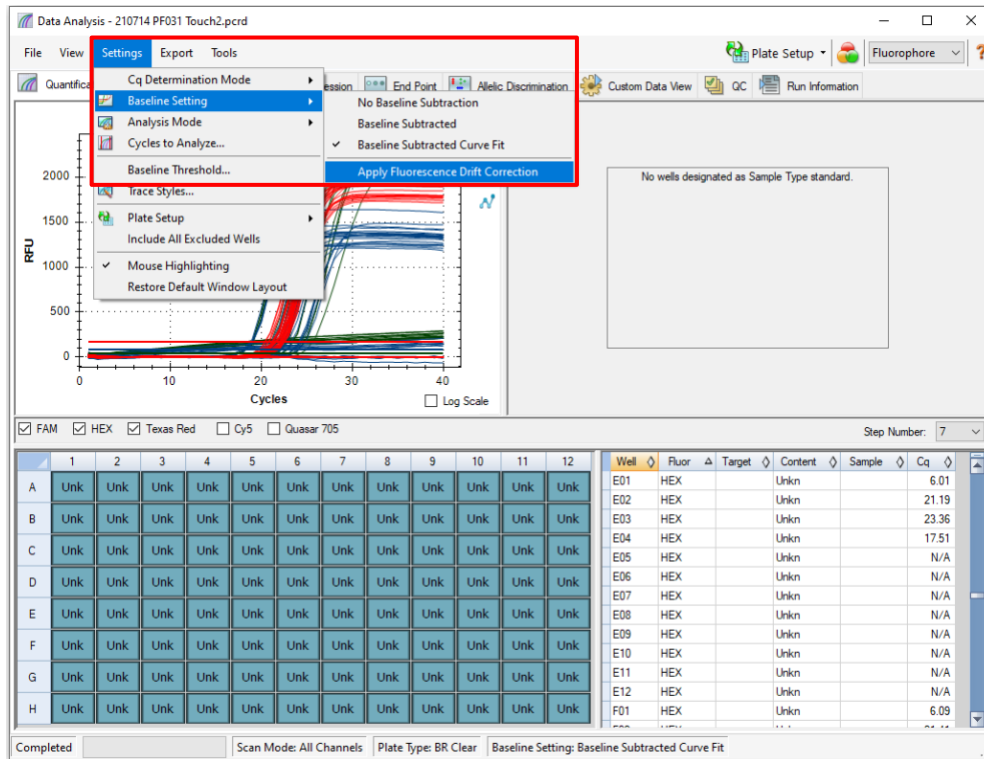
**Figure 29. Paramètres du mode de détermination Cq**



Cliquer sur **Settings** (Paramètres) > **Baseline Setting** (Paramètre de référence) et sélectionner **Baseline Subtracted Curve Fit** (Ajustement de la courbe soustraite des valeurs de référence) puis activer **Apply Fluorescence Drift Correction** (Appliquer la correction de l'écart de fluorescence) (**Figure 30**)

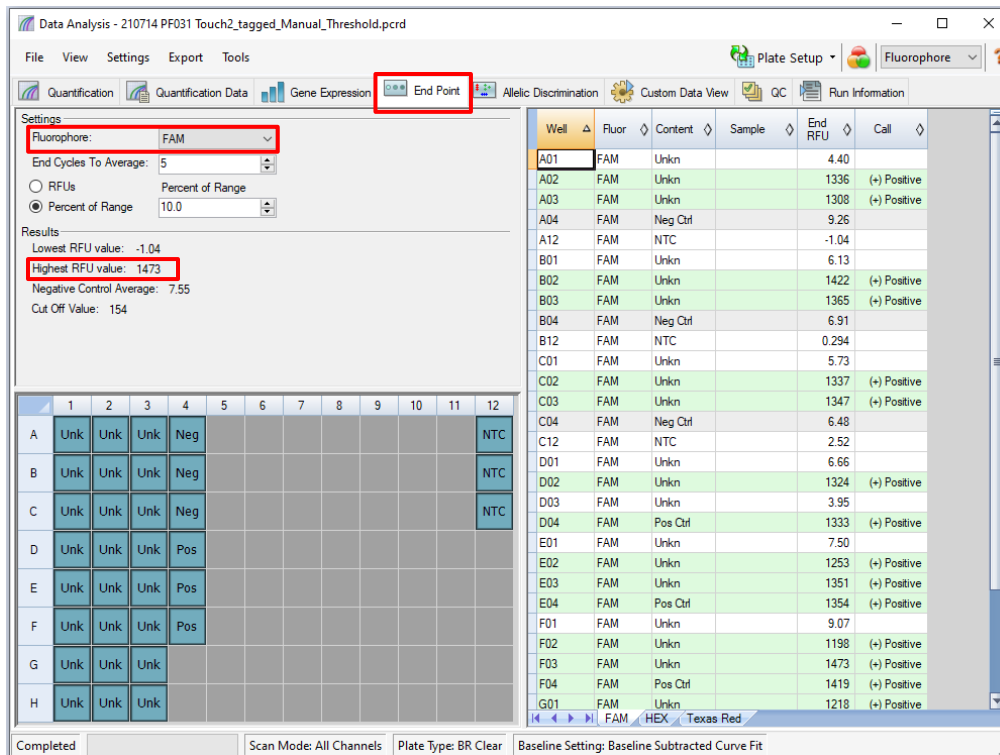


Figure 30. Paramètres de référence



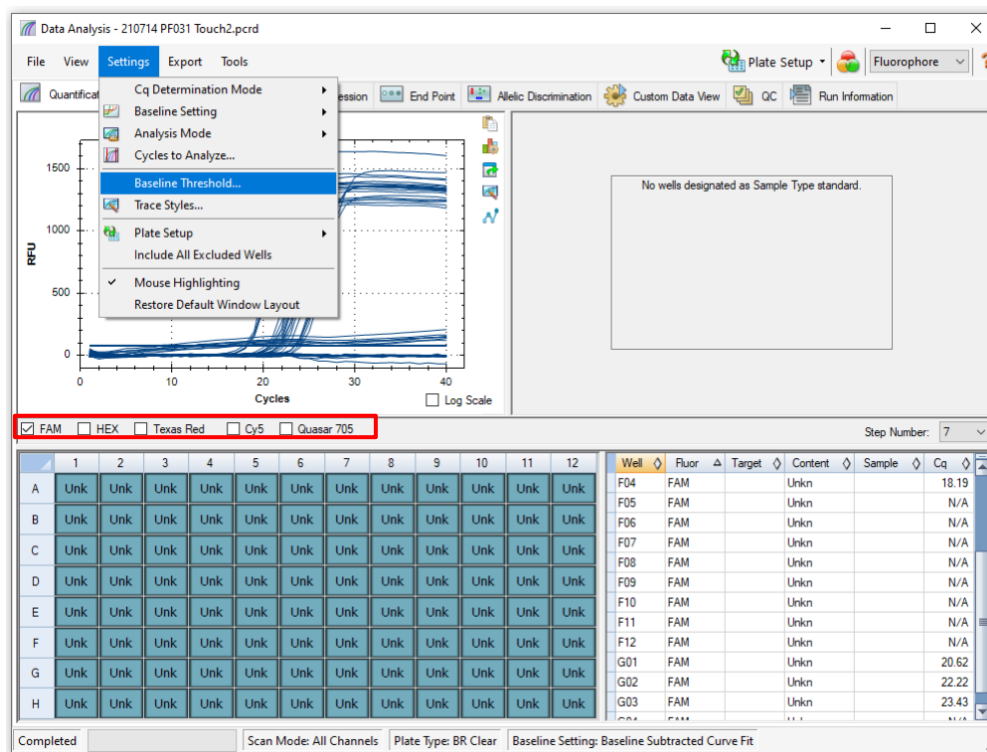
Sélectionner l'onglet **End Point** (Critère d'évaluation) pour afficher les valeurs d'évaluation de la fluorescence et sélectionner **FAM fluorophore** (Fluorophore FAM) et noter la « **Highest RFU value** » (Valeur RFU la plus élevée) (**Figure 31**)

Figure 31. Noter la « Highest RFU value » (Valeur RFU la plus élevée)



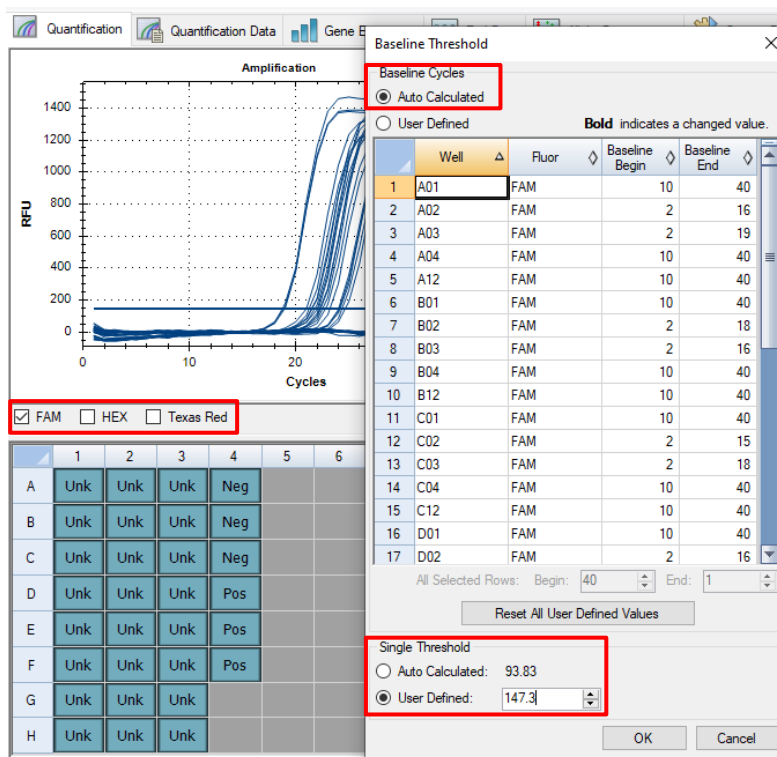
Retourner dans l'onglet **Quantification** (Quantification) et décocher les fluorophores **HEX** et **Texas Red**. Sélectionner ensuite **Settings** (Paramètres) > **Baseline Threshold** (Seuil de référence) (**Figure 32**)

**Figure 32. Cocher le seuil de référence pour chaque canal**



Activer **Baseline Cycles** (Cycles de référence) > **Auto Calculated** (Calcul automatique) pour tous les puits et **Single Threshold** (Seuil unique) > **User Defined** (Défini par l'utilisateur) > régler la valeur sur **10 %** de la « **Highest RFU value** » (Valeur RFU la plus élevée) pour ce canal comme déterminé par la **Figure 31**. Cette étape doit être effectuée en sélectionnant un canal à la fois (**Figure 33**).

Figure 33. Paramètres du seuil de référence



Répéter les étapes de la **Figure 31** à la **Figure 33** pour les canaux **HEX** et **Texas Red**. Ces étapes doivent être effectuées en sélectionnant un canal à la fois.

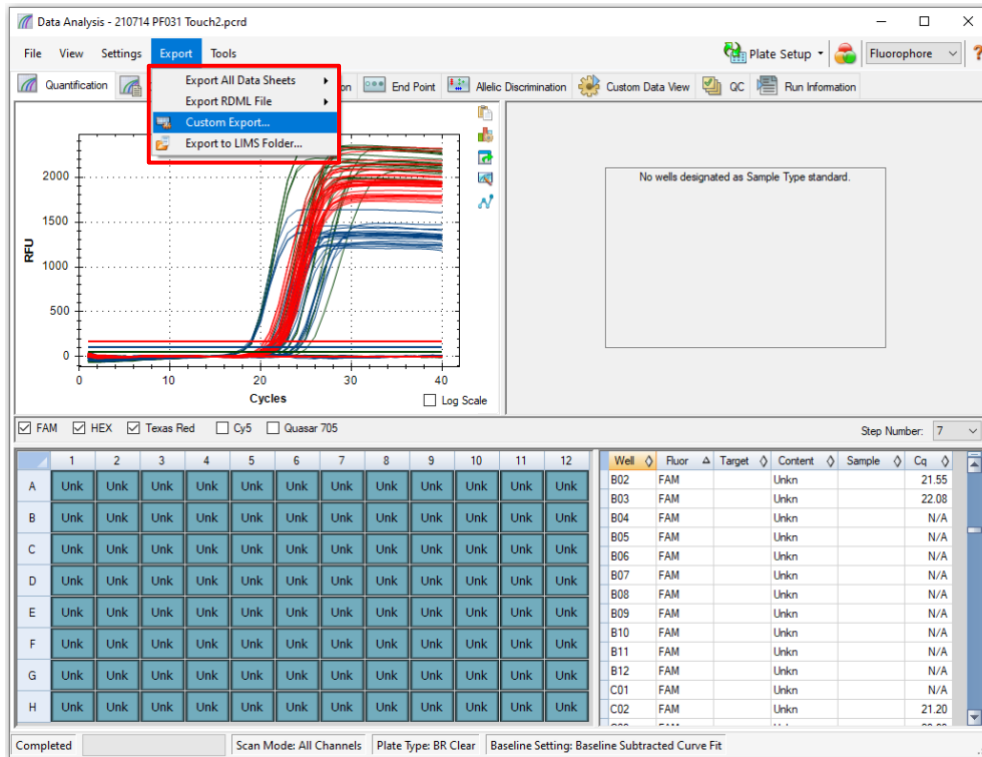
### 20.3 Exportation des résultats à partir de l'analyse intégrée

Sélectionner **Export** (Exporter) > **Custom Export** (Exportation personnalisée) (**Figure 34**).

Pour obtenir des résultats sous forme de fichier de valeurs séparées par des virgules (.csv)

Pour obtenir des résultats sous forme de fichier de texte délimité par des tabulations (.txt)

Figure 34. Exporter des résultats



Sélectionner le format d'exportation voulu (p. ex. .csv ou .txt), choisir les champs à exporter et cliquer sur **Exporter** (Figure 35).

Figure 35. Paramètres d'exportations personnalisés

The 'Custom Export' dialog box is shown. The 'Export Format' dropdown is set to 'CSV (\*.csv)'. Under 'Data to Export', the 'Include Run Information Header' checkbox is checked. The 'Sample Description' section has checkboxes for 'Well', 'Fluorophore', 'Target Name', 'Content', 'Replicate Number', 'Sample Name', 'Biological Group Name', and 'Well Note'. The 'Quantification' section has checkboxes for 'Cq', 'Starting Quantity', 'Cq Mean', 'Cq Standard Deviation', and 'Quantity Standard Deviation'. The 'Melt Curve' section has checkboxes for 'Melt Temperature', 'Melt Peak Height', 'Melt Peak Begin Temperature', and 'Melt Peak End Temperature'. The 'End Point' section has checkboxes for 'End Point Call' and 'End RFU'. The 'Export' button at the bottom is highlighted with a red box.

#### 20.4 Interprétation des résultats avec le logiciel d'analyse PlexPCR SARS-CoV-2 (CFX).

L'interprétation des données peut être effectuée en utilisant le logiciel d'analyse *PlexPCR*<sup>®</sup> SARS-CoV-2 (CFX). Le logiciel d'analyse peut être fourni sur demande. Contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour de plus amples informations.

Voir **Annexe A : Interprétation des résultats** pour les consignes d'utilisation du logiciel d'analyse *PlexPCR*<sup>®</sup> SARS-CoV-2 (CFX).

## 21 Annexe A : Interprétation des résultats

L'interprétation des données nécessite le logiciel d'analyse **PlexPCR**<sup>®</sup> SARS-CoV-2. Le logiciel d'analyse SARS-CoV-2 automatise l'interprétation des données des résultats d'amplification et rationalise le flux de travail.

Pour des instructions détaillées supplémentaires sur la plate-forme **FastFinder**, consulter **FastFinder Instructions For Use** (mode d'emploi de FastFinder) disponible dans le menu **Help** (Aide).

Voir le **Tableau 27** pour connaître le logiciel d'analyse approprié pour chaque instrument de PCR en temps réel. Le logiciel d'analyse peut être fourni sur demande. Contacter [tech@speedx.com.au](mailto:tech@speedx.com.au) pour de plus amples informations.

Tableau 27. Logiciel d'analyse <b>PlexPCR</b> <sup>®</sup> SARS-CoV-2		
Réf.	Logiciel d'analyse*	Instrument de PCR en temps réel
99021	<b>PlexPCR</b> <sup>®</sup> SARS-CoV-2 (LC480)	LC480 II
99022	<b>PlexPCR</b> <sup>®</sup> SARS-CoV-2 (CFX)	CFX96 Dx et CFX96 Touch

\* Consulter le site Web <https://plexpcr.com/products/respiratory-infections/plexpcr-sars-cov-2/> pour s'assurer d'utiliser la toute dernière version du logiciel d'analyse.

**REMARQUE** : observer les pratiques de laboratoire standard pour le transfert, le signalement et le stockage des résultats afin de prévenir la perte des informations relatives aux échantillons.

### 21.1 Plateforme FastFinder – Exigences informatiques minimales

Le logiciel d'analyse est disponible sur la plateforme FastFinder (<https://www.ugentec.com/fastfinder/analysis>). Les exigences informatiques minimales pour l'installation et la plateforme FastFinder sont indiquées ci-dessous.

#### Matériel

PC (les ordinateurs Mac ne sont pas compatibles)

Processeur : 2 GHz, 2 Go RAM

Espace disque : 10 Go

Connexion Internet câble ou DSL, proxy non pris en charge

Résolution d'écran minimale : 1366 x 768 pixels

#### Système d'exploitation client compatible

Système d'exploitation éditions compatible

Windows 10 32 et 64 bits

Windows 8.1 32 bits, 64-bits et ARM

Windows 8 32 bits, 64 bits et ARM

Windows 7 SP1 32 et 64 bits

Windows Vista SP2 32 et 64 bits

#### Navigateurs compatibles

Les utilisateurs du compte administrateur de FastFinder nécessitent l'un des navigateurs suivants :

- Internet Explorer 11 ou version ultérieure.
- Microsoft Edge 25 ou version ultérieure.
- Firefox 45 ou version ultérieure.
- Google Chrome 47 ou version ultérieure.

Il est possible d'utiliser des versions antérieures mais celles-ci ne sont pas officiellement prises en charge.

## Logiciel

Pour utiliser le logiciel FastFinder, il faut au minimum .NET 4.6.1. Pour plus de renseignements sur le framework .NET, veuillez consulter les pages d'aide de Microsoft Windows.

## Paramètres antivirus



Votre logiciel antivirus est susceptible de mettre en quarantaine le programme d'installation de FastFinder (UgenTec.FastFinder.Installer.exe). Veuillez ajouter ce fichier dans la liste verte du programme antivirus. Exemple : Symantec (Risque : WS.Reputation.1)

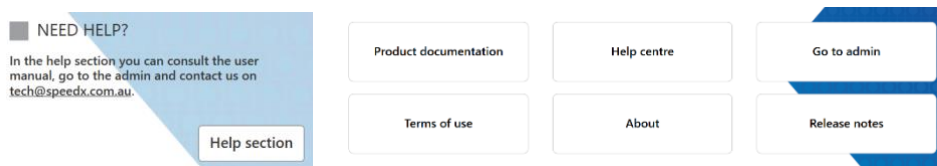
## Exigences de pare-feu

Les connexions https doivent être autorisées pour \*.fastfinderplatform.com:443.

Pour des instructions détaillées supplémentaires sur la plate-forme **FastFinder**, consulter **FastFinder Instructions For Use** (mode d'emploi de FastFinder) disponible dans le menu Help (**Aide**).

Pour accéder au menu Help (Aide) :

- Ouvrir le menu Start (Démarrer) 
- Sélectionner  ou la section **Help** (Aide) et sélectionner ensuite **Product Documentation** (Documentation du produit) puis **Instructions For Use** (Mode d'emploi).



## 21.2 Device set up (Configuration du dispositif) (nouvel utilisateur ou nouveau dispositif)

Consulter **FastFinder Instructions For Use** (mode d'emploi de FastFinder) pour obtenir des instructions détaillées relatives à la configuration du dispositif, accessible depuis le menu **Help** (Aide)

### Ouvrir **FastFinder**

- Sélectionner **Devices** (Dispositifs) dans la barre des tâches
  - > Sélectionner **Add** (Ajouter)
  - > Sélectionner un fichier (fichier de série) pour le nouveau dispositif
- Pour changer le **Current directory** (Répertoire actuel)
  - > Sélectionner **Browse** (Naviguer) et sélectionner le dossier contenant les fichiers utiles
  - > Sélectionner **Next** (Suivant)
- Ajouter les informations sur le dispositif
  - > Sélectionner **Save** (Enregistrer)

### 21.2.1 Compensation de couleur

**REMARQUE** : consulter la **section 19.3** pour plus d'informations sur la Colour Compensation (Compensation de couleur)



Un fichier de compensation de couleur doit être ajouté aux dispositifs **LC480 II**

- Sélectionner le dispositif LC480 II
  - > Dans la section **Colour Compensation** (Compensation de couleur), sélectionner 

- > Sélectionner le fichier de compensation de couleur pour le dispositif dans le répertoire
- Pour changer le Current directory (Répertoire actuel)
  - > Sélectionner **Browse** (Naviguer) et sélectionner le dossier contenant les fichiers utiles
- Sélectionner **Next** (Suivant)
- Sélectionner **PlexPCR SARS-CoV-2 (LC480)** dans la liste pour le lier à ce test
- Sélectionner **Save** (Enregistrer)

De nouveaux fichiers ou des fichiers complémentaires de compensation de couleur peuvent être ajoutés à un dispositif ou désactivés au besoin.

Dans la section Compensation de couleur du dispositif

- En regard du nom du fichier, sélectionner 
- Sélectionner  pour activer ou désactiver un fichier de compensation de couleur pour un test
- Sélectionner **Save** (Enregistrer)



### 21.3 Module de test (nouvel utilisateur)

Consulter **FastFinder Instructions for use** (Mode d'emploi de FastFinder) pour obtenir des instructions détaillées relatives à la configuration des tests, accessible à partir du menu **Help** (Aide)

Ouvrir **FastFinder**

- Sélectionner **Assays** (Tests) dans la barre des tâches
- Sélectionner **Add** (Ajouter)
  - > Pour le LC480 II > Sélectionner **PlexPCR SARS-CoV-2 (LC480)** dans la liste
  - > Pour CFX96 Dx et CFX96 Touch > Sélectionner **PlexPCR SARS-CoV-2 (CFX)** dans la liste
- Sélectionner **Add** (Ajouter)



Pour activer ou désactiver les versions du module de test

- Dans **General assay information** (Information générale relative au test)
  - > Sélectionner  **Versions**
  - > Sélectionner  pour activer ou désactiver la version du test
  - > Sélectionner **Save** (Enregistrer)

### 21.4 Dénomination des échantillons



Des étiquettes d'identification d'échantillon peuvent être assignées à un module de test pour automatiser la détection des puits et des types d'échantillon pour l'analyse.

Sélectionner **Assays** (Tests) dans la barre des tâches

- Dans les étiquettes d'identification de type d'échantillon (préfixe), sélectionner 
  - > Sélectionner  pour ajouter une étiquette d'identification afin de définir les étiquettes d'identification de types d'échantillon (contrôle négatif, contrôle(s) positif(s) et échantillon classique)
  - > Ajouter le mot, l'acronyme ou la lettre souhaité dans le champ de texte





> Sélectionner **Save** (Enregistrer)

- Dans les étiquettes d'identification de la définition du mélange (suffixe), sélectionner 
  - > Sélectionner  pour ajouter une étiquette d'identification et définir le nom du mélange
  - > Ajouter le mot, l'acronyme ou la lettre souhaité dans le champ de texte
  - > Sélectionner **Save** (Enregistrer)
- Dans le logiciel de l'appareil (avant ou après que la série soit terminée), assigner la même étiquette d'identification aux puits appropriés
  - > Pour le **LC480 II** consulter la **Section 19** pour obtenir des instructions sur la programmation des étiquettes d'identification d'échantillon dans le fichier de série
  - > Pour les **CFX96 Dx** et **CFX96 Touch** voir la **Section 20** pour obtenir des instructions sur la programmation des étiquettes d'identification d'échantillon dans le fichier de série

**REMARQUE** : les étiquettes d'identification des échantillons sont sensibles à la casse. L'étiquette d'identification doit correspondre exactement à celle assignée dans le fichier de série.

### 21.5 Ajouter des numéros de lot de mélange

Des numéros de lot de mélange peuvent être assignés au test pour permettre la traçabilité des réactifs

- Sélectionner **Assays** (Tests) dans la barre des tâches
  - > Dans **Assay Lot** (Lot de test) : sélectionner  pour ajouter un nouveau lot ou sélectionner  pour modifier un lot existant
  - > Une fois ajoutés, les numéros de lot sont disponibles dans le module d'analyse

Sélectionner  Show all lots  Show only active lots pour afficher tous les numéros de lot ou seulement les numéros de lot actifs.

### 21.6 Analyse

Sélectionner **Analyses** (Analyses) dans la barre des tâches pour démarrer une nouvelle analyse

#### 1 Select datafile

Rechercher le fichier à télécharger pour l'analyse depuis un répertoire en particulier

- Pour changer le **Current directory** (Répertoire actuel)
  - > Sélectionner **Browse** (Naviguer) et sélectionner le dossier contenant les fichiers utiles
- Sélectionner run (data) file (traiter le fichier [de données]) dans la liste
  - > Sélectionner **Next step** (Étape suivante)


#### 2 Assign assay(s)

Assigner manuellement à la plaque les informations relatives au test si la dénomination des échantillons n'a pas été configurée dans le module **Assays** (Tests)


- Pour **LC48 II** > Sélectionner **PlexPCR SARS-CoV-2 (LC480)**
- Pour **CFX96 Dx**, et **CFX96 Touch** > Sélectionner **PlexPCR SARS-CoV-2 (CFX)**
- Sélectionner les puits et les assigner en tant que :
  - > Échantillon classique (S)

- > Contrôle négatif (N)
- > Contrôle positif (P)
- Sélectionner **Next step** (Étape suivante)

Pour enregistrer la disposition de la plaque comme modèle pour des utilisations futures

- Sélectionner les puits et assigner des types d'échantillons
  - > Sélectionner  pour enregistrer le modèle
- Indiquer le nom de modèle pour les utilisations futures
  - > Sélectionner **Save** (Enregistrer)

Pour charger un modèle de plaque précédemment enregistré

- Sélectionner  pour charger un modèle de plaque
  - > Sélectionner le modèle dans le menu déroulant
  - > Cocher la case pour charger les types d'échantillons spécifiés dans le modèle de plaque
  - > Sélectionner **Load** (Charger)

### 3 Configure assay(s)

- Pour **LC480 II** > Sélectionner **PlexPCR SARS-CoV-2 (LC480)**
  - > Sélectionner le **Assay Lot** (Lot de tests) dans le menu déroulant
  - > Sélectionner **Analyse** (Analyser)
- Pour **CFX96 Dx** et **CFX96 Touch** > Sélectionner **PlexPCR SARS-CoV-2 (CFX)**
  - > Sélectionner le **Assay Lot** (Lot de tests) dans le menu déroulant
  - > Sélectionner **Analyse** (Analyser)

## 21.7 Résultats

Consulter le **Tableau 28** pour obtenir un résumé des résultats possibles d'échantillon signalés.

**REMARQUE** : il est fortement recommandé de confirmer les courbes d'amplification pour tous les échantillons positifs.


Pour finaliser l'analyse et éviter d'autres modifications par l'utilisateur

- > Sélectionner **Authorise Analysis** (Autoriser l'analyse)
- > Sélectionner **Yes** (Oui) pour confirmer
- Pour rejeter l'analyse ou la redémarrer
  - > Sélectionner **Restart Analysis** (Redémarrer l'analyse) ou **Reject Analysis** (Rejeter l'analyse)
  - > Sélectionner une des options pour confirmer

## 21.8 Courbe de référence

Une courbe de référence peut être enregistrée et utilisée pour comparer les échantillons d'une même plaque ou de plaques différentes

- Sélectionner l'échantillon désiré dans le menu **Well Details** (Détails du puits) ou dans le menu **Target Details** (Détails de la cible)

- Dans le menu du graphe d'amplification > sélectionner 
  - > Sélectionner la case à cocher du canal désiré et ajouter une étiquette
  - > Sélectionner **Save** (Enregistrer) pour ajouter le signal comme courbe de référence

Cette courbe de référence s'affiche alors en lien avec le test dans le menu **Assays** (Tests) et peut être désactivée à tout moment.

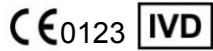
## 21.9 Aperçu des résultats

Tableau 28. Interprétation des résultats du logiciel d'analyse <i>PlexPCR</i> <sup>®</sup> SARS-CoV-2 (onglet Results Overview [Présentation des résultats])					
Puits	Nom	Test	Résultat	Valeurs de Cq	Résultats généraux
A1	Échantillon 1_CoV	PlexPCR SARS-CoV-2	Positif	RdRp : 25,94 CI : 19,17	<b>Échantillon 1 - Positif</b> SARS-CoV-2 détecté.
A2	Échantillon 2_CoV	PlexPCR SARS-CoV-2	Négatif	CI : 18,82	<b>Échantillon 2 - Négatif</b> SARS-CoV-2 non détecté. CI valide
A3	N_CoV	PlexPCR SARS-CoV-2	Négatif	CI : 18,63	<b>N - Négatif</b> Contrôle négatif valide.
A4	Échantillon 3_CoV	PlexPCR SARS-CoV-2	Non valide		<b>Échantillon 3 - Non valide</b> CI non valide. Effectuer une nouvelle extraction et tester de nouveau l'échantillon.
A5	Échantillon 4_CoV	PlexPCR SARS-CoV-2	Positif	ORF1ab : 22,75 RdRp : 23,48 CI : 18,79	<b>Échantillon 4 - Positif</b> SARS-CoV-2 détecté.
A6	Échantillon 5_CoV	PlexPCR SARS-CoV-2	Positif	ORF1ab : 22,75 RdRp : 23,48 CI : 18,79	<b>Échantillon 5 - Positif</b> SARS-CoV-2 détecté.
A7	N_CoV	PlexPCR SARS-CoV-2	Non valide		<b>N – Non valide</b> Contrôle négatif valide.
A8	Échantillon 6_CoV	PlexPCR SARS-CoV-2	Positif	ORF1ab : 23,08 RdRp : 24,34 CI : 19,42	<b>Échantillon 6 - Positif</b> SARS-CoV-2 détecté.
A9	P_CoV	PlexPCR SARS-CoV-2	Positif	ORF1ab : 18,98 RdRp : 19,97 CI : 18,39	<b>P – Positif</b> Contrôle positif valide.
A10	P_CoV	PlexPCR SARS-CoV-2	Non valide		<b>P – Non valide</b> Contrôle positif non valide.
A11	Échantillon 7_CoV	PlexPCR SARS-CoV-2	Non valide	IC : 18,83	<b>Échantillon 7_CoV – Non valide</b> Erreur : changement anormal du niveau de fluorescence.
A12	Échantillon 8_CoV	PlexPCR SARS-CoV-2	Non valide		<b>Échantillon 8_CoV – Non valide</b> <b>L'échantillon a été rejeté.</b>

### 21.10 Exporter des résultats

- Pour exporter des résultats
  - > Sélectionner **Exports** (Exportations) dans la barre des tâches
  - > Exporter un ou plusieurs types de rapport suivants : **Cq values list (CSV) [Liste de valeurs de Cq (CSV)]**, **Results (CSV) [Résultats (CSV)]**, **Generic Amplification CSV [Amplification générique (CSV)]** ou le fichier LIS-integration (Intégration LIS).
  - > Sélectionner **Exports** (Exportations)
- Pour télécharger les exportations
  - > Sélectionner **Reports** (Rapports) dans la barre des tâches
  - > Sélectionner les fichiers et enregistrer
- Sinon exporter un rapport personnalisé
  - > Exporter **Amplification Curve Analysis (PDF) (Analyse de la courbe d'amplification [PDF])**
  - > Sélectionner les informations incluses souhaitées (graphes, piste d'audit, aperçu des résultats)
  - > Sélectionner les paramètres de rapport souhaités pour personnaliser l'ordre des échantillons
- Sélectionner **Exports** (Exportations)
  - > Ouvrir dans **Report Viewer** (Visionneuse de rapport) pour visualiser, enregistrer et imprimer

## 22 Glossaire



Conformité européenne  
Pour usage de diagnostic *in vitro*



Référence catalogue



Code de lot



Représentant autorisé  
Dans la Communauté européenne



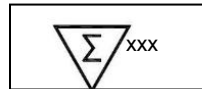
Fabricant



Date de fabrication



Limite de température



Quantité suffisante pour  
xxx déterminations



Date de péremption



Importateur européen



Marque d'évaluation de la  
conformité au Royaume-Uni

Les produits SpeedX peuvent être couverts par un ou plusieurs brevets locaux ou étrangers. Consulter [www.plexpcr.com/patents](http://www.plexpcr.com/patents) pour obtenir des informations complètes sur les brevets.

**PlexPCR**<sup>®</sup>, **PlexZyme**<sup>®</sup> et **PlexPrep**<sup>™</sup> sont des marques commerciales appartenant à SpeedX. Les autres droits d'auteur et marques de commerce appartiennent à leurs détenteurs respectifs.

© Copyright 2023 SpeedX Pty. Ltd.