

COV19 qcLAMP kit

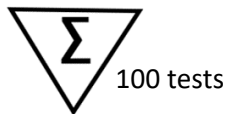
CE IVD

REF 000055

MODE D'EMPLOI (IFU)
Pour les diagnostics *in vitro*
Pour une utilisation par des professionnels
uniquement
Non destiné à l'autodiagnostic



BIOPIX-T



100 tests



BIOPIX DNA TECHNOLOGY P.C.
Parc Scientifique et Technologique de
Crète
N. Plastira 100, Vassilika Vouton
GR-700 13, Heraklion, Grèce



www.biopix-t.com



info@biopix-t.com



(+30) 281 0391986

PRÉAMBULE

Indications liées à la directive européenne 98/79/CEE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro

1. Catégorie de produit : Kit de diagnostic in vitro
2. Nom du produit : Kit COV19 qcLAMP.
3. Numéro du produit dans le catalogue : n° cat. 000055
4. Objectif de l'utilisation : Voir la section « Utilisation prévue ».

Demandes de renseignements et service client

Envoyez-nous un e-mail (info@biopix-t.com) pour poser vos questions en lien avec le produit.

Table des matières

Utilisation prévue.....	3
Description du produit.....	3
Contenu et composants des kits.....	3
Conditions de stockage et de manipulation	4
Durée de conservation du kit.....	4
Matériel et équipement supplémentaires requis, mais non fournis.....	4
Avertissements et précautions	5
Préparation des réactifs.....	7
Collecte, manipulation et préparation des échantillons avant le test.....	7
Procédure de test.....	8
Interprétation des résultats	10
Limitations de la méthode	11
Caractéristiques de performance	12
Limite de détection	12
Évaluation de la sensibilité, de la spécificité et de la précision des analyses	12
Évaluation de la sensibilité et de la spécificité cliniques	13
Symboles utilisés et explications	15
Assistance technique	16
Références bibliographiques	16
Abréviations	16

Utilisation prévue

Le kit COV19 qcLAMP est un test de diagnostic moléculaire *in vitro* destiné à être utilisé pour la détection de l'ARN viral du SARS-CoV-2 en association avec le dispositif de soins au point d'intervention Pebble qcLAMP Platform.

Le kit qcLAMP COV19 ne nécessite pas d'extraction d'ARN et peut être utilisé avec des échantillons prélevés par écouvillonnage nasopharyngé et oropharyngé, collectés sur des personnes chez qui l'on suspecte une infection à la COVID-19. Le kit peut également être utilisé avec de l'ARN extrait.

L'ARN du SARS-CoV-2 est généralement détectable dans les échantillons prélevés dans les voies respiratoires supérieures pendant la phase aiguë de l'infection. Des résultats positifs indiquent la présence de l'ARN du SARS-CoV-2. Pour déterminer le statut d'infection du patient, il est nécessaire d'établir une corrélation clinique avec les antécédents du patient et d'autres informations diagnostiques. Un résultat positif n'exclut pas une infection bactérienne ou une co-infection par d'autres virus.

Les résultats négatifs doivent être considérés comme potentiellement négatifs et n'excluent pas une infection par le SARS-CoV-2 et ne doivent pas être utilisés comme seule base pour les décisions de prise en charge des patients. Les résultats négatifs doivent être combinés aux observations cliniques, aux antécédents du patient et aux informations épidémiologiques.

Le kit qcLAMP COV19 est destiné à être utilisé par du personnel formé ou des professionnels de la santé (experts), qui maîtrisent la réalisation de tests sur le dispositif Pebble qcLAMP Platform. Il n'est pas destiné à être utilisé pour l'autodiagnostic.

Description du produit

Le kit COV19 qcLAMP est un dispositif de test d'amplification de l'acide nucléique (TAAN) basé sur la méthode LAMP colorimétrique en temps réel (qcLAMP) pour la détection de la cible ARN du gène N du SARS-CoV-2. Le kit qcLAMP COV19 ne nécessite pas d'extraction de l'ARN et peut être utilisé directement avec des échantillons prélevés par écouvillonnage nasopharyngé et oropharyngé. Le kit peut également être utilisé avec de l'ARN extrait.

Le kit comprend un Mélange d'enzymes 2X qui contient un mélange de polymérase Bst et de transcriptase inverse thermostable, un tampon de réaction optimisé, du Mg^{2+} et des dNTP. Il comprend en outre un mélange séparé d'amorces COV19 5X qui contient des amorces spécifiques du SARS-CoV-2 et un indicateur bleu d'hydroxynaphtol (HNB), et un mélange d'amorces de contrôle 5X pour amplifier une cible endogène humaine (RNase P). Le tampon d'échantillon BPX 2X fourni neutralise les inhibiteurs d'échantillons courants pour une amplification et une détection directes des échantillons bruts. Le kit comprend également de l'huile minérale qui permet d'éviter les contaminations croisées et de minimiser l'évaporation.

Chaque kit permet de réaliser 100 réactions. Les tests sont réalisés dans le dispositif Pebble qcLAMP Platform, qui contrôle la température et le temps de la réaction et facilite l'analyse colorimétrique numérique en temps réel des réactions d'amplification. La durée totale du test dans le dispositif Pebble qcLAMP Platform est de 30 minutes pour conclure à un résultat négatif. Le délai pour conclure à un résultat positif peut varier entre 10 et 27 minutes selon la concentration cible initiale.

Contenu et composants des kits

Le kit qcLAMP COV19 contient les composants suivants permettant de réaliser **100 tests/réactions qcLAMP** :

Composants du kit COV19 qcLAMP

Composant	Quantité	Volume	Description
Mélange d'enzymes 2X	1 tube	1,25 mL	Solution incolore/bouchon noir
Mélange d'amorces COV19 5X	1 tube	0,5 mL	Solution violette/bouchon violet
Mélange d'amorces de contrôle 5X	1 tube	0,25 mL	Solution violette/bouchon vert
Eau sans nucléase	1 tube	1,0 mL	Solution incolore/bouchon blanc
Tampon d'échantillon BPX 2X	6 tubes	1,8 mL	Solution incolore/bouchon neutre
Huile minérale	1 tube	1,8 mL	Solution incolore/bouchon bleu

Conditions de stockage et de manipulation

À la livraison, les composants des kits doivent être conservés dans leur emballage d'origine à -20 °C. Pendant la préparation des réactions de tests, tous les matériaux, à l'exception de l'huile minérale, doivent être conservés sur de la glace ou dans un récipient de stockage réfrigéré (0-4 °C). Pendant la manipulation des matériaux, l'huile minérale peut rester à température ambiante.

Une manipulation incorrecte des composants du kit peut entraîner une détérioration du kit qcLAMP COV19 et, par conséquent, des résultats erronés.

Avant la première utilisation du kit COV19 qcLAMP, il est recommandé d'aliquoter une partie du volume initial des réactifs du **Mélange d'enzymes 2X** et du **Mélange d'amorces COV19 5X** afin de réduire le risque de détérioration du kit dû aux multiples cycles de congélation-décongélation. Évitez plus de deux cycles de congélation-décongélation.

Durée de conservation du kit

Le kit est stable pendant 12 mois à -20 °C.

Matériel et équipement supplémentaires requis, mais non fournis

Les matériaux et composants nécessaires à la détection du SARS-CoV-2 qui ne sont pas inclus dans le kit sont les suivants :

Pour une utilisation avec de l'ARN extrait ou des échantillons bruts :

- A. Kits pour la collecte et le transport d'échantillons porteurs de virus affectant les voies respiratoires supérieures
- B. Le dispositif de soins au point d'intervention Pebble qcLAMP Platform (BIOPIX-T)
- C. Contrôles positifs (matrice d'ARN synthétique ou plasmide) tels que les standards moléculaires synthétiques BIO-RAD pour SARS-CoV-2 ou équivalents et contrôles négatifs (ADN génomique ou eau sans RNase).
- D. Autres équipements et matériaux :
 - 1 Pipettes calibrées réglables.
 - 2 Embouts de pipettes à filtre stérilisés (10 µL, 200 µL et 1000 µL).
 - 3 Tubes PCR d'un volume maximal de 0,2 ml (par exemple, Multiply-Pro. PCR tube unique, 0,2 ml de SARSTEDT).

Spécifications : mini tubes PCR à fermeture sûre et à profil élevé.

Dimensions : Hauteur avec bouchon : 21,6 mm-21,7 mm, diamètre extérieur (DE) : 5,9 mm-6,1 mm.

- 4 Tubes PCR d'un volume maximal de 1,5 ml.
- 5 Solutions de dégradation de l'ADN et de l'ARN telles que DNAZap™, RNAZap™, eau de Javel à 10 % (dilution 1:10 d'hypochlorite de sodium commercial 5,25-6,0 %) ou équivalent.
- 6 Équipement de protection (gants jetables non poudrés et blouse de laboratoire).

Pour une utilisation avec de l'ARN extrait uniquement :

- E. Kits et outils d'extraction de l'ARN pour l'extraction de l'ARN total à partir d'échantillons cliniques.

Avertissements et précautions

1. Pour une utilisation dans le cadre de diagnostics *in vitro*.
2. Le kit qcLAMP COV19 est certifié uniquement pour la détection des acides nucléiques du SARS-CoV-2, et non pour d'autres virus ou agents pathogènes.
3. Les réactifs doivent être aliquotés dans des volumes plus petits s'ils ne sont pas utilisés directement afin d'éviter de multiples cycles de congélation-décongélation.
4. Le traitement des échantillons doit être effectué conformément aux directives de biosécurité de niveau 2 (BSL-2) ou plus.
5. Ne pas ouvrir les tubes après la fin des réactions qcLAMP pour éviter la contamination de la zone par les amplicons d'ADN.
6. Ne pas manger, boire, fumer, appliquer de cosmétiques ou manipuler des lentilles de contact dans les zones où des réactifs sont présents et où des échantillons humains sont manipulés.
7. Seul un personnel formé est autorisé à utiliser le kit qcLAMP COV19 et à évaluer les données.
8. Ne pas utiliser les composants du kit qcLAMP COV19 une fois la date d'expiration passée.
9. Le kit qcLAMP COV19 a été optimisé pour être utilisé avec le dispositif Pebble qcLAMP Platform.
10. Avant de traiter l'échantillon, vérifier la turbidité et la viscosité de l'échantillon. Les échantillons turbides et visqueux peuvent influencer la réaction et donc les résultats. Si l'échantillon est très turbide, nous recommandons une dilution à 1:10 ou 1:100 de l'échantillon prélevé sur l'écouvillon avant de procéder au test. Toutefois, cette action aura également pour effet d'abaisser le seuil de détection du test COV19 qcLAMP.
11. Éliminer tout réactif, récipient et échantillon humain inutilisé ou utilisé conformément aux réglementations fédérales, nationales et locales.
12. Porter un équipement de protection individuelle approprié (par exemple, des gants, une blouse, des lunettes de protection) lors de la manipulation des échantillons cliniques.

Les avertissements suivants doivent être pris en compte lors de l'utilisation du kit :

Avertissement	Cause	Recommandation
La couleur initiale du mélange d'amorces COV19 5X et du mélange d'amorces de contrôle 5X n'est pas violette.	Stockage inadéquat du kit.	Conserver le kit à -20 °C.
	Les réactifs du kit ont subi trop de cycles de congélation-décongélation.	Réduire au minimum le nombre de cycles de congélation-décongélation.
La couleur initiale de la réaction est bleu ciel (avant d'être placée dans le dispositif Pebble qcLAMP Platform).	La réaction n'a pas été préparée correctement.	S'assurer du mélange adéquat des réactifs et de l'exactitude des volumes prélevés à la pipette.
	Stockage inadéquat du kit.	Conserver le kit à -20 °C.
	Kit utilisé après la date d'expiration.	À utiliser avant la date d'expiration.

	Les réactifs du kit ont subi trop de cycles de congélation-décongélation.	Réduire au minimum le nombre de cycles de congélation-décongélation.
Les réactions de contrôle positif ne montrent pas d'amplification.	Les réactifs du kit ont subi trop de cycles de congélation-décongélation.	Réduire au minimum le nombre de cycles de congélation-décongélation.
	Stockage inadéquat du kit.	Conserver le kit à -20 °C.
	Kit utilisé après la date d'expiration.	À utiliser avant la date d'expiration.
	La réaction n'a pas été préparée correctement.	S'assurer du mélange adéquat des réactifs et de l'exactitude des volumes prélevés à la pipette.
	Aucun ARN n'a été ajouté.	S'assurer que l'échantillon est bien ajouté dans la réaction.
	Le contrôle ARN positif a été dégradé.	Éviter les cycles multiples de congélation-décongélation et aliquoter les réactifs de manière appropriée.
	Réactifs du kit contaminés par des RNases.	Utiliser des solutions (par exemple, de l'éthanol, une solution de chlore, un détergent) pour nettoyer les surfaces et les dispositifs. Utiliser un équipement de protection. Remplacer les stocks de réactifs par de nouveaux matériaux.
Les échantillons extraits de l'ARN ne montrent pas d'amplification.	Le processus d'extraction n'a pas été effectué correctement.	Utiliser le mélange d'amorces de contrôle 5X pour vérifier le processus d'extraction.
	La charge virale est inférieure au seuil de détection.	Les résultats négatifs n'excluent pas une infection par le SARS-CoV-2 et ne doivent pas être utilisés comme seule base pour les décisions de prise en charge des patients. L'échantillonnage et les tests doivent être répétés après au moins 24 heures.
Les échantillons bruts ne montrent pas d'amplification.	Les échantillons bruts contiennent du mucus ou du sang.	Réduire la viscosité en diluant les échantillons prélevés sur l'écouvillon 10× ou 100× avant de poursuivre, ou prélever un nouvel échantillon.
	La charge virale est inférieure au seuil de détection.	Les résultats négatifs n'excluent pas une infection par le SARS-CoV-2 et ne doivent pas être utilisés comme seule base pour les décisions de prise en charge des patients. L'échantillonnage et les tests doivent être répétés après au moins 24 heures.
Les réactions négatives montrent une amplification.	Contamination de l'échantillon par de l'ARN.	Ne jamais ouvrir les tubes de réaction après l'amplification. N'utiliser que des tubes avec des couvercles sécurisés et qui n'ont jamais été utilisés auparavant. Utiliser une solution de dégradation de l'ADN pour nettoyer l'espace de travail et l'équipement ou une solution d'eau de Javel au chlore à

		10 %. Remplacer les stocks de réactifs par de nouveaux matériaux. Changer les embouts de pipette entre chaque prélèvement d'échantillon.
	Stockage inadéquat du kit.	Conserver le kit à -20 °C.
	Les réactifs du kit ont subi trop de cycles de congélation-décongélation.	Réduire au minimum le nombre de cycles de congélation-décongélation.
	Amplification sans matrice.	Toutes les réactions doivent être préparées et conservées sur de la glace avant l'amplification. Lancer les réactions qCLAMP immédiatement après la préparation.

Préparation des réactifs

Tous les réactifs sont prêts à être mélangés et utilisés sans préparation préalable.

Avant la première utilisation du kit COV19 qCLAMP, il est recommandé d'aliquoter une partie du volume initial des réactifs du **mélange d'enzymes 2X** et du **mélange d'amorces COV19 5X** afin de réduire le risque de détérioration du kit dû aux multiples cycles de congélation-décongélation.

Collecte, manipulation et préparation des échantillons avant le test

Il est recommandé d'utiliser les tubes de réactifs ouverts le plus rapidement possible. Utiliser les composants du kit avant la date d'expiration conformément aux recommandations du fabricant. Il est très important d'utiliser des outils et des réactifs exempts de RNases. En outre, il est recommandé d'effectuer toutes les étapes de préparation dans des zones exemptes de nucléases, en utilisant uniquement des embouts de pipette à filtre.

Instructions pour les tests avec de l'ARN extrait :

Processus de collecte des échantillons :

1. Collecter les échantillons par écouvillonnage nasopharyngé et oropharyngé dans une solution de solubilisation.
2. Prélever 200 µL de l'échantillon collecté et procéder à l'extraction de l'ARN. Éluer l'ARN extrait dans 30 à 50 µL d'eau sans RNase et le placer immédiatement sur la glace ou le conserver à -20 °C.

Instructions pour les tests avec un échantillon brut :

Pour réaliser un test sans extraction d'ARN, les échantillons des écouvillons nasopharyngés et oropharyngés doivent être dissous dans l'une des solutions suivantes :

CITOSWAB® (milieu de transport viral –VTM-, 3 mL).

Improviral™ (milieu de conservation viral –VPM-, 3 mL).

Liofilchem® (milieu de transport viral –VTM-, 3 mL).

Les solutions suivantes ne sont **PAS** compatibles :

Biocomma, MWE, LITUO. Elles ne **DOIVENT donc JAMAIS** être utilisées en combinaison avec ce kit.

La collecte des échantillons doit se faire comme suit :

1. Collecter les échantillons par écouvillonnage nasopharyngé et oropharyngé dans une solution de solubilisation.

2. Prélever 100 μL de l'échantillon collecté et bien mélanger avec 100 μL de solution tampon d'échantillon BPX 2X. Utiliser immédiatement.

Procédure de test

La préparation des échantillons doit être effectuée avant la procédure de test. Conserver les échantillons préparés sur de la glace jusqu'à leur utilisation.

Conserver les tubes du kit qCLAMP COVID19 (Mélange d'enzymes 2X, Mélange d'amorces COVID19 5X, Mélange d'amorces de contrôle 5X, eau sans nucléase) et les réactions sur de la glace ou dans une glacière pendant la préparation. L'huile minérale peut être conservée à température ambiante pendant la préparation des tests.

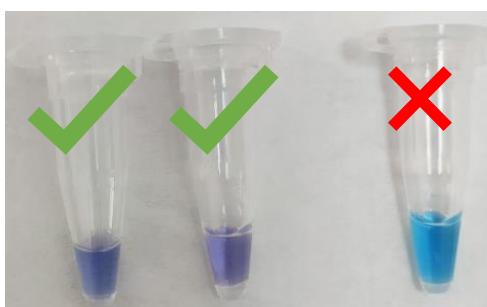
A. Instructions à suivre avec des échantillons d'ARN extraits :

1. Avant de préparer un mélange, prélever doucement avec la pipette l'ensemble de la solution de Mélange d'enzymes 2X et de la solution de Mélange d'amorces COVID19 5X.
2. Préparer un ou plusieurs tests comme indiqué dans le tableau suivant et les placer sur de la glace. La préparation de 25 μL pour la détection de l'ARN du SARS-CoV-2 dans un tube de 0,2 mL (non inclus dans le kit) est effectuée selon les instructions suivantes. Ajouter les réactifs dans chaque tube dans l'ordre suivant :

Réactif	Volume par réaction (μL)
Mélange d'enzymes 2X	12,5
Mélange d'amorces de contrôle 5X COVID19	5
Eau sans nucléase	5,5
ARN extrait	2

Le volume total pour une réaction doit être de 25 μL .

Remarque ! La couleur initiale de la réaction qCLAMP de 25 μL doit être violette ou bleu foncé (voir la figure ci-dessous – tube de gauche). Si la couleur est bleu ciel (voir la figure ci-dessous – tube de droite), ne pas effectuer le test. Pour plus d'informations, consulter la section « Avertissements et précautions ».



3. Ajouter soigneusement 15 μL d'huile minérale le long de la paroi de chaque tube et attendre environ 30 secondes jusqu'à ce qu'elle forme une couche sur la réaction qCLAMP. S'assurer que l'huile n'est pas mélangée à la réaction.
4. Placer les réactions dans le dispositif Pebble qCLAMP Platform et réaliser les tests en suivant le mode d'emploi du dispositif Pebble qCLAMP. Le nombre maximum d'échantillons pouvant être analysés simultanément est de 6.

Pour vérifier que l'extraction de l'ARN a été effectuée correctement, la procédure ci-dessus peut être répétée pour la détection d'une cible endogène humaine (contrôle interne, CI), le gène de la RNase P, en remplaçant le Mélange d'amorces 5X COV19 par le Mélange d'amorces de contrôle 5X. Utiliser la solution de Mélange d'amorces de contrôle 5X pour effectuer ce test. Dans ce cas, suivre les étapes 1 à 4 en remplaçant le tube de Mélange d'amorces COV19 5X par le tube de Mélange d'amorces de contrôle 5X.

Ce test est facultatif et peut être effectué pour chaque échantillon séparément.

Remarque ! Des contrôles positifs (matrice d'ARN synthétique ou plasmide) et négatifs (ADN génomique ou eau sans nucléase) doivent être utilisés pendant l'analyse de l'échantillon ou séparément, afin de vérifier la qualité des ingrédients du kit. Les contrôles positifs et négatifs ne sont pas inclus dans le kit.

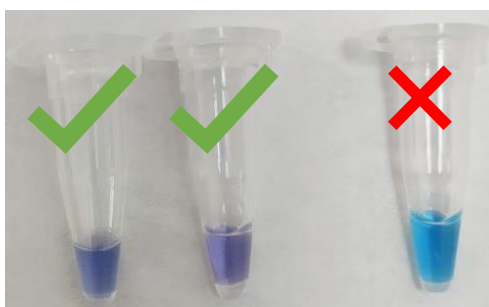
B. À suivre pour la détection directe des échantillons bruts :

1. Avant la préparation du mélange, prélever doucement avec la pipette l'ensemble du Mélange d'enzymes 2X et du Mélange d'amorces COV19 5X.
2. Préparer un ou plusieurs tests comme indiqué dans le tableau suivant et les placer sur de la glace. La préparation de 25 µL pour la détection de l'ARN du SARS-CoV-2 dans un tube de 0,2 mL (non inclus dans le kit) est effectuée selon les instructions suivantes. Ajouter les réactifs dans chaque tube dans l'ordre suivant :

Réactif	Volume par réaction (µL)
Mélange d'enzymes 2X	12,5
Mélange d'amorces de contrôle 5X COV19	5
Eau sans nucléase	2,5
Échantillon brut mélangé à un tampon BPX 2X	5

Le volume total pour une réaction doit être de 25 µL.

Remarque ! La couleur initiale de la réaction qCLAMP de 25 µL doit être violette ou bleu foncé (voir la figure ci-dessous – tube de gauche). Si la couleur est bleu ciel (voir la figure ci-dessous – tube de droite), ne pas effectuer le test. Pour plus d'informations, consulter la section « Avertissements et précautions ».



3. Ajouter soigneusement 15 µL d'huile minérale le long de la paroi de chaque tube et attendre environ 30 sec jusqu'à ce qu'elle forme une couche sur la réaction qCLAMP. S'assurer que l'huile n'est pas mélangée à la réaction.

- Placer les réactions dans le dispositif Pebble qcLAMP Platform et réaliser les tests en suivant le mode d'emploi du dispositif Pebble qcLAMP Platform. Le nombre maximum d'échantillons pouvant être analysés simultanément est de 6.

Interprétation des résultats

Le dispositif Pebble qcLAMP Platform utilise une mini caméra numérique pour suivre en temps réel la transition entre les différentes nuances de couleur pendant l'amplification colorimétrique LAMP. La caméra collecte des images non calibrées à des intervalles de temps prédéfinis (intervalle de 10 secondes) et extrait automatiquement les valeurs des canaux rouge, vert et bleu (RVB).

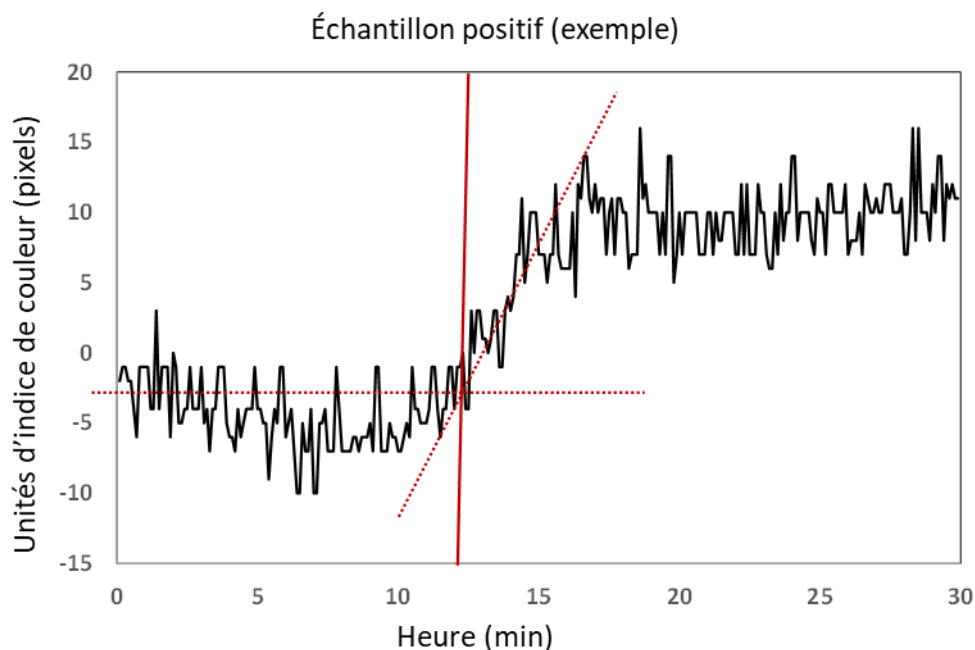
Le changement de couleur est exprimé en unités d'indice de couleur (pixels) sur l'axe Y d'une courbe de temps qui s'affiche en temps réel sur l'écran d'un appareil intelligent. Jusqu'à 6 (six) courbes peuvent être affichées simultanément.

La durée d'un test est de 30 minutes. L'évaluation des résultats doit être réalisée par l'utilisateur final (noter qu'il s'agit d'un test à usage professionnel uniquement).

Résultats de test positifs

Le point spécifique où se produit un changement de la pente de la courbe en temps réel (augmentation des unités d'indice de couleur) correspond à la « durée jusqu'au résultat positif » (ligne continue rouge). C'est le point où les deux lignes rouges en pointillés se croisent (voir la figure ci-dessous).

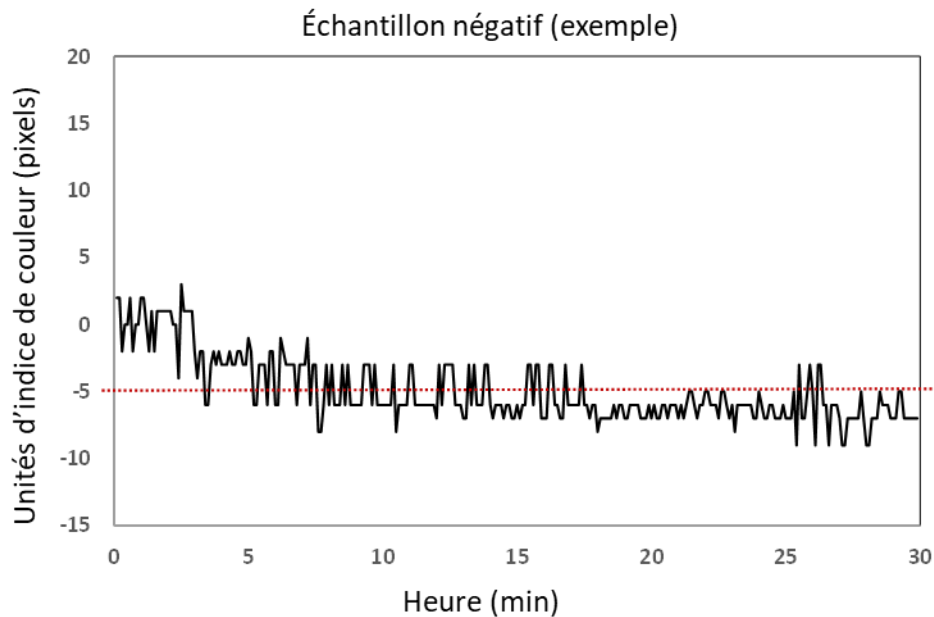
Lorsqu'un échantillon est positif pour une cible donnée, la pente de la courbe change comme le montre la figure ci-dessous.



Résultats de test négatifs

Un résultat négatif est indiqué par une courbe plate (les unités d'indice de couleur n'augmentent pas) maintenue pendant toute la période de suivi.

Lorsqu'un échantillon est négatif pour une cible donnée, la pente de la courbe **NE CHANGERA PAS** (voir la figure ci-dessous).



Résultats de test non valide

Les résultats de tests négatifs avec l'ARN extrait et le Mélange d'amorces de contrôle 5X doivent être considérés comme non valides. Le processus d'isolement de l'ARN et la préparation des réactions doivent être répétés. Pour plus d'informations, consulter la section « Avertissements et précautions ».

Les résultats positifs qui apparaissent après **27 minutes NE SONT PAS** valides et doivent être réitérés.

Limitations de la méthode

1. Pour obtenir des résultats fiables, il est essentiel de respecter le mode d'emploi du kit qCLAMP COV19. Des modifications dans le protocole ou la préparation de la réaction peuvent entraîner l'échec des tests.
2. Les résultats doivent être interprétés en tenant compte de toutes les autres données recueillies pour l'échantillon. L'interprétation doit être effectuée par un personnel formé et expérimenté dans l'utilisation de ce type de kit.
3. Des mutations au sein de la séquence cible peuvent entraîner l'impossibilité de détecter la présence du virus dans la région cible.
4. Les inhibiteurs ou d'autres types d'interférences peuvent donner un résultat faussement négatif. Dans ce cas, un autre type d'échantillon ou une autre méthode d'isolement peut être bénéfique. Aucune étude d'interférence n'a été menée sur les effets des médicaments les plus courants sur les rhumes et les réactions.
5. Ce test ne permet pas d'exclure les maladies causées par d'autres agents pathogènes viraux ou bactériens.
6. Les valeurs prédictives positives et négatives dépendent fortement de la prévalence. Un résultat faussement négatif est plus probable lorsque l'incidence de la maladie est élevée. Un résultat faussement positif est plus probable lorsque la prévalence de la maladie est modérée ou faible.
7. Les tests effectués avec le kit qCLAMP COV19 permettent uniquement de savoir si une personne est actuellement infectée par ce coronavirus en particulier. Il ne peut en aucun cas fournir des

informations sur d'autres maladies ou symptômes et ne permet pas de savoir si un patient a déjà été infecté par le virus ou s'il est immunisé contre le virus.

8. Un résultat faussement négatif peut se produire si le niveau de charge virale contenu dans un échantillon est inférieur au seuil de détection du test ou si l'échantillon a été mal collecté, manipulé ou transporté.
9. Ce kit a été validé avec des échantillons humains.

Caractéristiques de performance

Limite de détection

Pour évaluer les allégations de capacité de détection du kit, trois mesures indépendantes avec six répétitions chacune ont été effectuées avec 5 µL d'un contrôle positif contenant 50 copies/µl et 25 copies/µl, respectivement, du matériau de référence Standard SARS-CoV-2 de Bio-Rad (n° cat. COV19) dissous dans de l'eau. L'évaluation a été réalisée en utilisant un seul lot de réactifs et un seul dispositif.

Évaluation de la sensibilité, de la spécificité et de la précision des analyses

Une validation technique du kit COV19 qCLAMP avec le dispositif de soins au point d'intervention Pebble qCLAMP Platform a été effectuée conformément à la norme EN 13612:2002.

La sensibilité analytique du kit, et plus particulièrement la capacité de détection, a été déterminée en suivant les recommandations publiées par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).

Deux types de matrices ont été sélectionnés pour tenir compte de la variabilité de la matrice : l'eau sans DNase et RNase et l'ARN humain isolé de la salive humaine. L'ARN de salive humaine a été utilisé pour imiter la complexité de la matrice des échantillons natifs des patients. Quatre échantillons individuels, uniques et naturels prélevés sur différents patients ont été utilisés dans l'étude, conformément aux normes CLSI EP17-A2. De la salive humaine a été collectée sur quatre volontaires sains et l'ARN a été isolé avec le kit RNeasy de Qiagen (n° cat. 74192). L'ARN humain isolé a été regroupé pour générer la matrice représentative.

Les échantillons à faible concentration ont été préparés en ajoutant le matériau de référence Standard SARS-CoV-2 de Bio-Rad (n° cat. COV19) à chaque type de matrice pour obtenir une concentration finale de 50 copies des mesures/µl (seuil de détection).

Le plan expérimental prévoyait la prise de mesures répétées sur des échantillons vierges (NC) et à faible concentration (PC) en utilisant deux lots de réactifs différents, les expériences étant réalisées sur plusieurs jours sur un seul instrument, mais par deux opérateurs différents. Le plan de traitement, mis en œuvre conformément aux normes CLSI EP17-A2, contenait tous les facteurs de conception requis et le nombre requis de répétitions.

Le taux d'échantillons positifs et positifs correctement identifiés par le kit qCLAMP COV19 sur le dispositif Pebble qCLAMP Platform devait être >95 %. La précision a été exprimée comme la proportion de vrais positifs et de vrais négatifs dans tous les cas évalués.

Résultats des mesures de qualification

Les mesures effectuées et l'interprétation des données sont résumées dans les tableaux suivants :

Type échantillon	Lot de réactif	Opérateur	Mesure	Points de données collectés			
				Contrôle positif (PC)_H2O_50		Contrôle positif (PC)_H2O_25	
				Correct	Faux	Correct	Faux
Contrôle positif	Lot 1	Opérateur 1	1	6	0	5	1

			2	6	0	4	2
			3	6	0	4	2

Sur la base des données ci-dessus, le seuil de détection (LOD) s'est avéré être de 50 copies/μL.

				correct		false		% correct		% correct		% correct		% correct
				Matrix human RNA	Matrix H2O	Matrix human RNA	Matrix H2O	Matrix human RNA	Matrix H2O	Matrix human RNA	Matrix H2O	Matrix human RNA	Matrix H2O	
Positive	Lot 1	Operator 1	Day 1	6	6	0	0	100	100	93.33	96.67	95		
			Day 2	6	6	0	0	100.0	100.0					
		Operator 2	Day 1	4	6	2	0	66.7	100.0					
			Day 2	12	11	0	1	100.0	91.7					
	Lot 2	Operator 1	Day 1	6	6	0	0	100.0	100.0					
			Day 2	6	6	0	0	100.0	100.0					
			Day 3	6	4	0	2	100.0	66.7					
		Operator 2	Day 1	6	6	0	0	100.0	100.0					
			Day 2	6	6	0	0	100.0	100.0					
				100.00	93.33	96.7	95.8							
Negative	Lot 1	Operator 1	Day 1	4	6	2	0	66.7	100.0	93.33	100.00	96.7		
			Day 2	6	6	0	0	100.0	100.0					
		Operator 2	Day 1	6	6	0	0	100.0	100.0					
			Day 2	12	12	0	0	100.0	100.0					
	Lot 2	Operator 1	Day 1	4	6	2	0	66.7	100.0					
			Day 2	6	6	0	0	100.0	100.0					
			Day 3	6	6	0	0	100.0	100.0					
		Operator 2	Day 1	6	6	0	0	100.0	100.0					
			Day 2	6	6	0	0	100.0	100.0					
				93.33	100.00	96.7	96.7							

Le nombre de vrais positifs était de 115, le nombre de faux positifs était de 5, le nombre de vrais négatifs était de 116, et le ratio de faux négatifs était de 4. Sur la base de ces chiffres, la sensibilité (taux de vrais positifs), la spécificité (taux de vrais négatifs) et la précision ont été calculées, comme suit :

Sensibilité analytique : 0,958 (95,8 %)

Spécificité analytique : 0,967 (96,7 %)

Précision : 0,9625 (96,3%)

Évaluation de la sensibilité et de la spécificité cliniques

Des tests cliniques ont été effectués sur un total de 645 échantillons nasopharyngés ou oropharyngés testés pour la COVID-19 (347 négatifs et 298 positifs, avec et sans extraction d'ARN), y compris des échantillons provenant de patients symptomatiques ou asymptomatiques de tous sexes et de tous âges. Les études de validation clinique ont été réalisées avec des échantillons congelés (ARN extrait congelé ainsi que des échantillons bruts congelés), tout en essayant d'équilibrer le nombre de charges virales faibles, moyennes et élevées. Pour déterminer la spécificité et la sensibilité diagnostiques, les échantillons ont été analysés par RT-PCR (méthode de référence) et selon la méthode qCLAMP (méthode de test).

A. Tests cliniques avec des échantillons d'ARN extrait

L'ARN extrait (congelé) de 318 échantillons (150 positifs et 168 négatifs) a été analysé à l'aide du kit qcLAMP COV19 avec le dispositif de soins au point d'intervention Pebble qcLAMP Platform. Les échantillons positifs présentaient des valeurs de seuil de cycle (Ct) de RT-qPCR allant de 12 à 35. Le temps le plus rapide observé pour obtenir un résultat positif avec la méthode qcLAMP était de 10,7 min pour un échantillon ayant une valeur Ct de 16, tandis que le maximum était de 26,8 min pour une valeur Ct de 30.

Les données correspondantes sont résumées dans le tableau suivant :

Valeur Ct	RT-PCR positif	Proportion	qcLAMP	PPA
<25	69	46 %	69	100 %
25-29	48	32 %	43	91,7 %
30-34	33	22 %	24	75,8 %

Méthode qcLAMP	Méthode RT-PCR		Total	
	Positif	Négatif		
Positif	138	2	140	
Négatif	12	166	178	
Total	150	168	318	

Sensibilité totale : 92 % (IC 95 % : 87,7 %-96,3 %)

Spécificité totale : 98,8 % (IC 95 % : 97,2 %-100 %)

Précision : 95,6 %

B. Tests cliniques avec des échantillons bruts (sans extraction d'ARN)

326 échantillons bruts congelés ont été analysés à l'aide du kit qcLAMP COV19 avec le dispositif de soin sur le point d'intervention Pebble qcLAMP Platform. Les échantillons positifs présentaient des valeurs de seuil de cycle (Ct) de RT-qPCR allant de 12 à 31. Le temps le plus rapide observé pour obtenir un résultat positif avec qcLAMP était de 11,5 min pour un échantillon ayant une valeur Ct de 14, tandis que le maximum était de 23,8 min pour une valeur Ct de 26.

Les données correspondantes sont résumées dans le tableau suivant :

Valeur Ct	RT-PCR positif	Proportion	qcLAMP	PPA
<25	104	70,7 %	101	97,1 %
25-29	36	24,5 %	13	36,1 %
30-34	7	4,8 %	2	28,6 %



















Méthode qcLAMP	Méthode RT-PCR		Total	
	Positif	Négatif		
Positif	125	1	126	
Négatif	22	178	200	
Total	147	179	326	

Sensibilité totale : 85,0 % (IC 95 % : 79,2 %-90,8 %)

Spécificité totale : 99,4 % (IC 95 % : 98,3 %-100 %)

Précision : 93 %

Symboles utilisés et explications

Symboles	Explication
	Site Web
	E-mail
	Numéro de téléphone
	Utilisation pour les diagnostics <i>in vitro</i>
	Code de lot
	Numéro de catalogue
	Consulter le mode d'emploi électronique
	Fabricant
	Conformité européenne
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
	Maintenir au sec
	Diagnostic <i>in vitro</i> auprès du patient
	Non destiné à l'autodiagnostic
	Limite de température (pour le transport)
 100 tests	Contient une quantité suffisante pour 100 tests
	Numéro de série
	Utilisation quotidienne
	Identifiant unique du dispositif



Recyclable

Assistance technique

Pour l'assistance technique, contacter BIOPIX-T à :

Adresse : BIOPIX DNA TECHNOLOGY P.C., Science and Parc Scientifique et Technologique de Crète, N. Plastira 100, Vassilika Vouton, GR-700 13, Heraklion, Grèce.

Téléphone : (+30) 281 0391986

E-mail : support@biopix-t.com / info@biopix-t.com

Références bibliographiques

Papadakis et al., "Real-time colorimetric LAMP methodology for quantitative nucleic acids detection at the Point-of-Care," no. 89, pp. 1–20, 2020, doi: 10.1101/2020.07.22.215251.

Organisation mondiale de la santé (OMS), "Coronavirus disease 2019 (2019-nCoV) Situation Report – 11," WHO Bull., no. 31 janvier, pp. 1–7, 2020.

Abréviations

Cat.no : Numéro de catalogue

LAMP : Amplification isotherme médiée par boucle (Loop-mediated isothermal amplification)

qLAMP : Amplification isotherme médiée par boucle colorimétrique quantitative

PCR : Réaction en chaîne par polymérase (Polymerase Chain Reaction)

ARN : Acide ribonucléique

ADN : Acide désoxyribonucléique

mL : millilitre

µL : microlitre