

## BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2

RT-PCR destinée à la détection du SARS-CoV-2 (virus responsable de la Covid-19)  
en prélèvement nasopharyngé ou salivaire

Ref. 3150058\_SEC01 / 3150058\_SEC02 /  
3150058\_TR02

Pour un usage professionnel de diagnostic *in vitro* uniquement.

## 1.1 OBJECTIF

BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2 est un test de diagnostic moléculaire *in vitro* destiné à la détection qualitative du SARS-CoV-2 (virus responsable de la Covid-19) à partir d'un extrait d'ARN obtenu à partir de prélèvements nasopharyngés ou salivaires. Ce test permet de détecter 2 cibles moléculaires du SARS-CoV-2 situées sur les gènes RdRp et E.

## 2.1 INTRODUCTION

La COVID-19 est une maladie respiratoire aigüe causée par le SARS-CoV-2. Le SARS-CoV-2 appartient à la même famille que le virus responsable du Syndrome Respiratoire Aigu Sévère (SRAS).

Les symptômes les plus courants de la COVID-19 sont la fièvre, la fatigue et la toux sèche.

La maladie peut se transmettre d'un individu à un autre par de petites gouttelettes émises par le nez ou la bouche lorsqu'une personne infectée tousse ou expire. Ces gouttelettes se déposent sur les objets et les surfaces autour de la personne. D'autres personnes contractent ensuite la COVID-19 en touchant ces objets ou surfaces, puis en se touchant les yeux, le nez ou la bouche. Les personnes peuvent également contracter la COVID-19 si elles inspirent les gouttelettes émises par une personne infectée par la maladie. La période estimée d'incubation pour la COVID-19 varie de 1 à 14 jours.

Les tests basés sur la recherche d'ARN du SARS-CoV-2 permettent d'identifier des personnes contaminées. Le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2 permet d'identifier aussi bien des infections silencieuses, que des patients présentant les symptômes lors de la phase aigüe de l'infection.

## 3.1 PRINCIPE

Le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2 est un test de diagnostic *in vitro*, basé sur la technologie de RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) en temps réel. Il est composé de microplaques 96 puits pré-remplies de Master mix contenant les dNTPs, le MgCl<sub>2</sub>, les amores et sondes fluorescentes, les enzymes Taq polymerase et Reverse Transcriptase, et le tampon de réaction.

Le test repose sur deux étapes :

- a) une rétrotranscription des ARN du virus et d'un ARN endogène humain en ADN complémentaire spécifique de l'ARN ciblé (ADNc)
- b) d'une amplification génique de l'ADNc sur deux régions spécifiques du SARS-CoV-2 : le gène RdRp et le gène E, ainsi que du contrôle interne via la RNase P. Cette méthode utilise des sondes marquées avec le fluorophore FAM pour l'amplification spécifique du gène E, et une sonde marquée avec le fluorophore HEX pour le gène RdRp.

Une troisième sonde marquée par le fluorophore Cy5 est utilisée pour l'amplification d'un contrôle interne d'amplification. Ce contrôle interne consiste à amplifier la RNase P, région codant pour l'ARN humain hautement conservé.

Ainsi ce contrôle procédural permet d'évaluer la qualité du prélèvement de l'échantillon biologique, et de valider les étapes d'extraction et de purification de l'ARN. Ce contrôle permet également de s'assurer que les étapes de rétrotranscription et d'amplification ont fonctionné, excluant ainsi des résultats faussement négatifs.

Cette technique permet donc une détection simultanée de 2 gènes spécifiques du SARS-CoV-2, et d'un contrôle interne selon les canaux de détection correspondants. L'augmentation du signal de fluorescence est détectée seulement si la séquence cible complémentaire à la sonde amplifiée est présente dans l'échantillon. Le signal fluorescent est donc directement proportionnel à l'amplification de la cible pendant la phase d'amplification. La valeur Cq (cycle quantification) correspond au cycle à partir duquel la fluorescence commence à augmenter de manière exponentielle différemment du bruit de fond. Le kit est utilisable sur deux types de matrices :

- écouvillon nasopharyngé
- écouvillon salivaire

Ce kit d'amplification peut être utilisé avec des extraits d'ARN purifiés ou sur des échantillons prélevés avec le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® Sample Collection (ref 3150060 / 3150060\_ST), et traités avec le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® Lysis (ref 3150059\_SEC01 / 3150059\_SEC02).

## 4.1 CONTENU DU KIT

Référence du kit	Matériel fourni	Matériel nécessaire mais non fourni
3150058_SEC01	-5 microplaques de 96 puits contenant le Master mix prêt à l'emploi -3 tubes de contrôle positif (CTRL +) -3 tubes de contrôle négatif (CTRL -) -5 films optiquement transparents ou 5 sachets de barrettes de bouchons transparents -1 notice d'utilisation	-Kit d'extraction des ARN -Gants non poudrés à usage unique -Micropipettes & pointes à filtre -Écouvillons & Milieu de transport -Thermocycleur pour PCR en temps réel avec -Centrifugeuse pour microplaques ou barrettes PCR
3150058_SEC02		

Référence du kit	Matériel fourni	Matériel nécessaire mais non fourni
3150058_TR02	-1 Microplaques de 96 puits sécable dans les 2 dimensions contenant le Master mix prêt à l'emploi -1 Contrôle positif (CTRL +) -1 Contrôle négatif (CTRL -) -1 notice d'utilisation	-Kit d'extraction des ARN -Gants non poudrés à usage unique -Micropipette & pointes à filtre -Écouvillons & milieu de transport -Thermocycleur pour PCR en temps réel -Centrifugeuse pour microtubes ou barrettes PCR

L'instrument de PCR en temps réel utilisé pour le test doit être un système "ouvert" qui possède au moins les caractéristiques principales suivantes :

- Essais quantitatifs de PCR en temps réel.
- Bloc de thermocyclage programmable (0.1mL low-profile pour la REF 3150058\_SEC01 ou 0.2mL pour les REF 3150058\_SEC02 / 3150058\_TR02).
- Source d'excitation : LEDs, lampe ou laser.
- Jeux de filtres (longueurs d'onde Excitation/Émission) adaptés à la détection des fluorophores "reporter" des sondes FAM, HEX et Cy5.
- Connexion avec un ordinateur utilisant un logiciel spécifique d'analyse permettant la récupération des données de fluorescence, et l'interprétation des résultats.

### Microplaques sécable 3150058\_SEC01

Le kit a été développé et validé sur les instruments de PCR en temps réel suivants : CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad), ABI 7500, QuantStudio™ 5 (Applied Biosystems), LightCycler®480 Instrument II (Roche), DT Lite 48/96 (DNA Technology / Amplix), QuantGene 9600 (BIOER).

### Microplaques sécable REF 3150058\_SEC02

Le kit est utilisable sur les instruments de PCR en temps réel 0.2mL suivants : QuantStudio™ 5 (Applied Biosystems), QuantGene 9600 (BIOER), SLAN-48/96P (Sansure), ABI7500 (Applied Biosystems®).

### Microplaques sécable REF 3150058\_TR02

Le kit est validé sur l'instrument de PCR en temps réel suivant : LineGene Mini S (Bioer).

## 5.1 PRÉCAUTIONS

- Pour diagnostic *in vitro*. A usage professionnel uniquement.
- Utiliser le test uniquement avant la date de péremption.
- Pour un résultat optimal, suivre scrupuleusement la procédure et les conditions de conservation.
- En cas de dégradation de l'emballage uniquement (pas de casse ou fuite), le coffret reste utilisable. Si le film de scellage en alu est troué ou décollé ne pas utiliser la plaque ou la barrette concernée.
- Conserver le kit à l'abri de la lumière.
- Ne pas exposer la plaque contenant le Master mix à la lumière directe.
- Ne pas manger, fumer ou boire lors de la réalisation du test.
- Utiliser des gants non poudrés de laboratoire jetables pendant toute la procédure du test. Considérer les échantillons comme potentiellement infectieux et les manipuler avec précaution, selon les recommandations du laboratoire.
- Retirer délicatement les films en aluminium ou bouchon de silicone afin d'éviter les projections de master mix.
- Centrifuger les tubes avant ouverture, les ouvrir les uns après les autres en les refermant bien entre chaque pipetage afin d'éviter toute contamination.
- Le CTRL+ contient des quantités importantes des séquences cibles. Il peut donc potentiellement contaminer les autres composants du kit si les bonnes pratiques de biologie moléculaire ne sont pas respectées. Pour limiter ce risque de contamination, il est recommandé de stocker dès la première ouverture du kit ce composant hors du kit.
- Les contrôles négatifs et positifs inclus dans le kit miment les résultats obtenus avec des échantillons patients négatifs ou positifs. Pour s'assurer qu'il n'y a pas de contamination lors de la manipulation, le soin est laissé à l'utilisateur d'inclure, dans le cadre de leur démarche qualité interne et à la fréquence choisie, un puits contrôle négatif dans lequel 10µL d'eau qualité biologie moléculaire sont ajoutés au Master mix.
- La gestion journalière d'un grand nombre d'échantillons et la grande sensibilité de la technique PCR peuvent, en l'absence de précaution, générer des résultats faussement positifs par contamination. Les manipulations pré-PCR, post-PCR et extraction d'ADN devront donc être réalisées dans des pièces séparées. Le flux de travail dans le laboratoire doit se dérouler de manière unidirectionnelle.
- Porter des gants jetables dans chaque zone, et les changer avant de passer d'une zone à l'autre.
- Nettoyer les éventuelles éclaboussures de l'échantillon en utilisant un désinfectant

approprié.

- Lors de l'utilisation du contrôle négatif et positif avec une série de patients, il est recommandé de déposer en premier le contrôle négatif, puis de déposer les échantillons patients, et de finir par le dépôt du contrôle positif.
- Ne pas ouvrir les tubes de PCR à la fin du test, et les jeter dans une poubelle adaptée aux déchets biologiques.
- Éliminer les composants souillés ou vides du kit dans une poubelle adaptée aux déchets biologiques.

## 6 | CONSERVATION ET STABILITÉ

Conserver le kit à une température de -20°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur le kit.

Les contrôles positif et négatif peuvent subir jusqu'à 30 cycles de congélation/décongélation.

Le kit est expédié congelé. Les composants du kit doivent arriver congelés. Dans ces conditions, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption. Sortir et décongeler uniquement le nombre de barrettes sécables ou de plaques de master mix nécessaires. Le Master mix peut subir jusqu'à 15 cycles de congélation/décongélation. Les plaques ou barrettes étant prêtées à l'emploi, il n'y a pas de raison de leur faire subir des cycles répétés de congélation-décongélation inutilement.

Il est recommandé de placer la plaque du Master mix sur un portoir réfrigéré ou sur de la glace le temps d'ajouter les échantillons. Une fois le film aluminium retiré, utiliser la plaque immédiatement.

## 7 | RECUEIL ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

- Recueillir les échantillons nasopharyngés à l'aide d'écouvillons stériles déchargés ensuite dans des tubes stériles. Les tubes stériles contenant un milieu de transport, ou ceux disponibles via le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® Sample Collection (ref 3150060 / 3150060\_ST), peuvent être utilisés pour décharger les écouvillons.
- Recueillir les échantillons salivaires à l'aide d'écouvillons et les décharger ensuite dans les tubes contenant du milieu de transport provenant uniquement du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® Sample Collection (ref 3150060 / 3150060\_ST).
- Les échantillons déchargés dans le milieu de transport peuvent être extraits immédiatement dans les 4h si conservés à température ambiante, ou stockés à une température de 2 à 8 °C pendant 24 heures, ou congelés à -70°C pour un stockage à long terme.
- Recueillir la salive dans un pot propre et stérile. Cette dernière est stable 24h à 4°C selon les recommandations de la HAS.
- Le transport des échantillons cliniques doit respecter les réglementations locales pour le transport des agents infectieux.

## 8 | EXTRACTION DES ACIDES RIBONUCLEIQUES

Vous pouvez utiliser vos propres systèmes d'extraction d'ARN viral, ou des kits commerciaux. Pour l'extraction de l'ARN, veuillez suivre les instructions du fabricant. Le kit a été validé avec les kits d'extraction suivants :

- BIOSYNEX AMPLIQUICK® Lysis (ref. 3150059\_SEC01 / 3150059\_SEC02)
- Kit Liferiver Extraction Viral (ref: ME- 0044)
- Kit d'extraction Mini ARN viral QIAamp (QIAGEN)

Il n'est pas nécessaire d'extraire les contrôles positif et négatif avec le kit d'extraction des acides nucléiques. Si l'utilisation des ARN purifiés est retardée, avant l'ajout dans le master mix, stockez-les à 4°C ou sur de la glace le jour du test sinon conservez à -70°C pour un stockage à long terme.

## 9 | PROTOCOLE D'AMPLIFICATION

### Préparation de la microplaqué sécable REF 3150058\_SEC01 ou REF 3150058\_SEC02

- Sortir la plaque sécable en barrettes de 8 puits, prendre le nombre de barrettes nécessaires (exemple : 1 barrette correspond à 6 échantillons ,1 CTRL+ et 1 CTRL-).
- Centrifuger 10 secondes les barrettes afin de récupérer les éventuelles gouttelettes présentes sur les bords du tube ou sur le film de scellage.
- Oter délicatement et jeter le film en aluminium. Déposer 10 µL d'échantillon ou de contrôle.
- Boucher les tubes avec les bouchons transparents fournis. Ne pas utiliser le film en aluminium.
- Centrifuger les tubes 10 secondes.

### Préparation de la microplaqué sécable REF 3150058\_TR02

Le kit contient un contrôle positif et un contrôle négatif. Il est recommandé de réaliser un contrôle à minima sur chaque nouveau lot ou à chaque nouvelle livraison. Chaque laboratoire se doit de mettre ensuite en place son propre planning de contrôles.

- Sortir la plaque sécable en tubes individuels, prendre le nombre de tubes nécessaires.
- Centrifuger 10 secondes les tubes afin de récupérer les éventuelles gouttelettes présentes sur les bords ou dans le bouchon.
- Retirer délicatement et conserver le bouchon de silicone bleu. Déposer 10 µL d'échantillon ou de contrôle.
- Reboucher les tubes avec les bouchons de silicone bleu.
- Centrifuger les tubes 10 secondes.

### Programme thermocycleur

Placer la plaque ou les tubes dans le thermocycleur et lancer le programme d'amplification suivant :

Cible	Fluorochrome
Gene E du SARS-CoV-2	FAM
Gène RdRp du SARS-CoV-2	HEX
Contrôle procédure Gène RNase P	Cy5

Programme PCR :

Etape	Répétition	Température	Durée	Acquisition
Rétrotranscription	1x	50°C	10 min	-
Activation	1x	95°C	2 min	-
Dénaturation		95°C	05 sec	-
Hybridation / élongation	50x	58°C	20 sec	oui

Entrer 20 µL de volume réactionnel dans le programme du thermocycleur.

Veuillez-vous référer au mode d'emploi du thermocycleur utilisé quant aux informations nécessaires à la programmation.

- Pour les thermocycleurs QuantStudio 5 (Applied Biosystems), QuantGene 9600 (BIOER) et ABI 7500 (Applied Biosystems) le mode **FAST** est compatible et validé.
- Pour le thermocycleur QuantStudio 5 (Applied Biosystems), veuillez sélectionner « **Aucun** » pour Référence passive et pour quencher.
- Pour le thermocycleur ABI 7500 (Applied Biosystems), le temps minimum nécessaire pour l'acquisition est de 30 secondes par défaut. Veuillez sélectionner le « **Mode expert** » de l'instrument et désélectionner les filtres d'acquisition 3 et 4 afin de permettre de réduire le temps d'acquisition à 20 secondes.

## 10 | ANALYSES DES DONNÉES ET INTERPRETATION DES RESULTATS

### A. Critères de validation de l'essai

#### Contrôle négatif :

La fluorescence émise doit être en-dessous du seuil (Threshold). C'est un indicateur d'amplification non-spécifique. Si la fluorescence dépasse le seuil, vérifier la présence d'une courbe atypique. Dans le cas d'une courbe d'amplification, une contamination ou une erreur de distribution dans les microtubes est à envisager. Seul le signal du contrôle interne doit être amplifié.

#### Contrôle positif :

La valeur du contrôle positif doit être détectée préférentiellement avant 30 cycles (Cq ≤ 30). En l'absence d'amplification du contrôle positif, l'existence d'un problème d'amplification ou de détection de fluorescence (thermocycleur défectueux) sont à envisager.

#### Contrôle interne d'amplification :

Le contrôle interne permet de s'assurer que les enzymes présentes dans le master mix sont fonctionnelles. En effet, une courbe d'amplification du contrôle interne doit être observée dans le canal Cy5.

Néanmoins, deux situations d'absence d'amplification du contrôle interne peuvent être observées :

- Si les gènes cibles sont présents initialement dans l'échantillon avec un nombre élevé de copies, le contrôle interne fourni peut ne pas être amplifié. Ce résultat est conforme et n'invalidé pas le test. Il doit être interprété comme un résultat positif malgré l'absence de signal du contrôle interne. Ce phénomène est le résultat d'une compétition de l'amplification entre le contrôle interne et les cibles présentes à un nombre élevé de copies.
- Si les gènes cibles dans les canaux FAM et HEX ne sont pas amplifiés et qu'il n'y a pas d'amplification du contrôle interne dans le canal Cy5, alors aucun résultat ne peut être rendu. Cette situation met en évidence la présence d'inhibiteurs de la PCR. La PCR doit être réitérée en repartant de l'échantillon primaire et sur extrait d'ARN préférentiellement.

### B. Interprétation qualitative (positive ou négative)

Les signaux supérieurs au seuil (threshold), et étant visuellement conformes à une courbe classique d'amplification en PCR, sont considérés comme des résultats positifs.

Canaux de détection			Interprétation
FAM (gène E)	HEX (gène RdRp)	Cy5 (Ctrl Interne)	
-	-	+	Contrôle négatif
+	+	+	Contrôle positif
+	+	+	Patient présentant de l'ARN spécifique du SARS-CoV-2
+	+	-	Patient présentant de l'ARN spécifique du SARS-CoV-2
-	+	+	Résultats douteux ou échantillon pas assez concentré - refaire le test
+	-	+	Résultats douteux - refaire le test
-	+	-	Résultats douteux - refaire le test
-	-	+	Patient ne présentant pas de l'ARN spécifique du SARS-CoV-2 détectable
-	-	-	Mauvaise qualité du prélèvement, inhibition de la réaction ou problème lors du test- Réaliser un nouveau test ou un nouveau prélèvement

Réglage des canaux de détection :

NB : En cas de signaux positifs dans les canaux (FAM et HEX) de détections de la cible pathogène, le signal du contrôle interne n'est pas nécessaire pour valider le résultat. Une charge élevée d'agents pathogènes peut entraîner un signal réduit ou absent pour le contrôle interne.

## 11 LIMITES DU TEST

- Pour obtenir des résultats fiables, respecter scrupuleusement les précautions d'emploi et suivre la procédure d'utilisation. Se référer à l'interprétation des résultats de la notice.
- Les prélèvements salivaires sont validés chez les patients asymptomatiques et symptomatiques uniquement ≤6 jours après apparition des premiers symptômes.
- Le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2 est une aide au diagnostic. Le résultat du test PCR doit être associé à la clinique.
- Les résultats du test doivent être interprétés dans le contexte épidémiologique, clinique et thérapeutique.
- Selon la charge d'agents pathogènes, des traces d'ARN peuvent persister plusieurs jours, semaines ou mois chez des patients symptomatiques ou asymptomatiques.

## 12 I PERFORMANCES

### Sensibilité analytique

Limites de détection des séquences RdRp et E sur extrait d'ARN à partir d'échantillons nasopharyngés :

L'ARN a été extrait avec le kit d'extraction Mini ARN viral QIAamp (QIAGEN). La limite de détection du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2 est définie comme étant la concentration, en nombre de copie /µL, pouvant être détecté à 100% sur un échantillon d'ARN spécifique de SARS-CoV-2. Elle a été déterminée en réalisant une série de dilution sur un échantillon de référence au nombre de copies connu.

GENE E			
Nombre de copies/µL	Nombre de répétats	Nombre de positifs	Pourcentage de détection (%)
10	12	12	100
5	12	12	100
3	12	12	100
2	12	12	100
1	12	12	100
0,5	12	11	92

GENE RdRp			
Nombre de copies/µL	Nombre de répétats	Nombre de positifs	Pourcentage de détection (%)
10	12	12	100
5	12	12	100
3	12	12	100
2	12	12	100
1	12	12	100
0,5	12	12	100

La limite de détection est de 1 copie /µL.

Limites de détection des séquences RdRp et E sur des échantillons nasopharyngés non extraits :

L'ARN a été obtenu avec le kit de lyse BIOSYNEX AMPLIQUICK® Lysis. Elle a été déterminée en réalisant une série de dilution, d'un échantillon de référence au nombre de copies connu, dans des prélèvements nasopharyngés qualifiés négatifs pour SARS-CoV-2.

GENE E			
Nombre de copies/µL	Nombre de répétats	Nombre de positifs	Pourcentage de détection (%)
10	12	12	100
5	12	12	100
3	12	12	100
2	12	12	100
1	12	12	100
0,5	12	11	92

GENE RdRp			
Nombre de copies/µL	Nombre de répétats	Nombre de positifs	Pourcentage de détection (%)
10	12	12	100
5	12	12	100
3	12	12	100
2	12	12	100
1	12	12	100
0,5	12	11	92

La limite de détection est de 1 copie /µL.

Limites de détection des séquences RdRp et E sur des échantillons salivaires non extraits :

L'ARN a été obtenu avec le kit de lyse BIOSYNEX AMPLIQUICK® Lysis. Elle a été déterminée en réalisant une série de dilution, d'un échantillon de référence au nombre de copies connu, dans des prélèvements salivaires qualifiés négatifs pour SARS-CoV-2.

GENE E			
Nombre de copies/µL	Nombre de répétats	Nombre de positifs	Pourcentage de détection (%)
10	12	12	100
5	12	12	100
3	12	12	100
2	12	12	100
1	12	12	100
0,5	12	11	92

GENE RdRp			
Nombre de copies/µL	Nombre de répétats	Nombre de positifs	Pourcentage de détection (%)
10	12	12	100
5	12	12	100
3	12	12	100
2	12	12	100
1	12	12	100
0,5	12	10	83

La limite de détection est de 1 copie /µL.

### Spécificité analytique

La sélection des oligonucléotides (amorces et sondes) a été validée par alignement BLAST. La comparaison des séquences par rapport à celles disponibles montre une détection spécifique de l'ensemble du SARS-CoV-2. Aucune amorce ou sonde ne détectent d'ARN viral autre que SARS-CoV-2.

Différents échantillons biologiques positifs en ARN virales ont été testés afin de s'assurer de la spécificité du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2.

### Réactivité croisée

Un panel d'échantillons négatifs et positifs pour d'autres virus a été testé. Aucun signal n'a été détecté dans les canaux FAM et HEX. Le contrôle interne était valide dans tous les tests :

430 échantillons au total	GENE RdRp	GENE E
Echantillons Influenza positifs	0/238	0/238
Echantillons RSV positifs	0/96	0/96
Echantillons négatifs Influenza (2018-2019)	0/96	0/96
ADN Synthétique (test en triplicat)		
Séquence MERS 200 000 copies/µL	0/3	0/3
Séquence SARS 200 000 copies/µL	0/3	0/3

Un panel de 79 échantillons d'ADNs et 37 d'ARNs issus d'une biobanque dont la liste est donnée dans les tableaux suivants, ont été testés avec le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2. Pour l'ensemble de ces échantillons, aucune amplification des cibles de SARS-CoV-2 (gène E ou RdRp) n'a été observée.

ARN	
Coronavirus Oc43	Influenza A H5
Coronavirus	Influenza B
Coronavirus SARS (2003)	Measles
Coxsackie A6	MERS Coronavirus
Coxsackie B1	Mumps
Coxsackie B5	Norovirus
Dengue 1 Virus	Novel Influenza A H1n1
Dengue 2 Virus	Parainfluenza 1
Dengue 3 Virus	Parainfluenza 2
Dengue 4 Virus	Parainfluenza 3
Echovirus 5	Parainfluenza 4 A
Enterovirus 68	Respiratory Syncytial Virus (Subtype A)
Rhinovirus	Respiratory Syncytial Virus (Subtype B)
Rotavirus	West Nile Virus
Rubella	Yellow Fever Virus
Tick-Borne Encephalitis Virus	Zika Virus (Asian Lineage)
Human Parainfluenza 1	Zika Virus
Influenza A H1	Chikungunya Virus
Influenza A H3	

La limite de détection est de 1 copie /µL.

Limites de détection des séquences RdRp et E sur des échantillons salivaires non extraits :

L'ARN a été obtenu avec le kit de lyse BIOSYNEX AMPLIQUICK® Lysis. Elle a été déterminée en réalisant une série de dilution, d'un échantillon de référence au nombre de copies connu, dans des prélèvements salivaires qualifiés négatifs pour SARS-CoV-2.

ADN		
<i>Acanthamoeba castellanii</i>	<i>Enterococcus faecium (vanA)</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>
<i>Adenovirus</i>	<i>Epstein-barr virus</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>
<i>Adenovirus 41</i>	<i>Escherichia coli (EAEC)</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Aspergillus fumigatus</i>	<i>Escherichia coli (EIEC)</i>	<i>Neisseria meningitidis sg A</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli (ETEC)</i>	<i>Neisseria meningitidis sg B</i>
<i>Bartonella henselae</i>	<i>Escherichia coli (VTEC)</i>	<i>Neisseria meningitidis sg C</i>
<i>Bartonella quintana</i>	<i>Francisella tularensis</i>	<i>Papillomavirus type 16</i>
<i>Bk virus</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Papillomavirus type 18</i>
<i>Bordetella holmesii</i>	<i>Giardia intestinalis</i>	<i>Parvovirus b19 (plasmid)</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	<i>Rickettsia conorii</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Borrelia afzelii</i>	<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Borrelia burgdorferi</i>	<i>Herpes simplex 1</i>	<i>Staphylococcus aureus (mecA-)</i>
<i>Borrelia garinii</i>	<i>Herpes simplex 2</i>	<i>Staphylococcus aureus (mecA+)</i>
<i>Brucella abortus</i>	<i>HHV-6</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>HHV-8</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Klebsiella pneumoniae (NDM-1)</i>	<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Candida auris</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Treponema pallidum</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Leishmania chagasi</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Leishmania infantum</i>	<i>Trypanosoma cruzi</i>
<i>Chlamydophila psittaci</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Ureaplasma parvum</i>
<i>Clostridium difficile</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Coccidioides immitis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Varicella-zoster virus</i>
<i>Coxiella burnetii</i>	<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Mycobacterium kansassii</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Cytomegalovirus</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	
<i>Enterococcus faecalis (vanB)</i>	<i>Mycobacterium ulcerans</i>	

Le tableau de contingence ci-dessous reprend les performances du test sur prélèvements salivaires traités avec le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® Lysis :

PCR de référence (Prélèvements nasopharyngés)		Positif	Négatif
BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2 (Prélèvements salivaires)	Positif	60	1**
	Négatif	1* 559	

\*Echantillon trouvé positif uniquement sur prélèvement nasopharyngé.

\*\*Echantillon trouvé positif uniquement sur prélèvement salivaire.

Sensibilité : 98.36%  
(95% IC : 91.20% à 99.96%) Spécificité : 99.82%  
(95% IC : 99.01% à 100%)

#### • Etude d'interférences

##### Sprays nasaux

Aucune interférence positive ou négative n'a été mise en évidence par étude de charge jusqu'à 10% dans le milieu de transport BIOSYNEX AMPLIQUICK® Sample Collection d'une matrice de sécrétions nasopharyngées ou de salive et traitées avec le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® Lysis, avec les substances suivantes :

Dénomination produit	Substance active
Nasacort	Acétonide de triamcinolone
Aturgyl	Oxymétazoline
Béconase	Dipropionate de bêclométasone
Budésonide Sandoz	Budésonide
Mométasone Sandoz	Furoate de mométasone
Avamys	Furoate de fluticasone
Fixorinox	Propionate de fluticasone

##### Sang

La présence de sang dans les prélèvements nasopharyngés peut rendre le résultat du test PCR ininterprétable. Notre étude montre qu'une concentration de sang jusqu'à 2% n'interfère pas avec la réaction de PCR lorsque le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2 est utilisé avec les kits BIOSYNEX AMPLIQUICK® Sample Collection et BIOSYNEX AMPLIQUICK® Lysis. Au-delà de 2%, on observe une diminution de la sensibilité de détection.

#### • Précision

Les données de précision du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2 ont été déterminées en se basant sur 4 conditions :

- Variabilité intra-essai (au sein d'une expérience)
- Variabilité inter-essais (entre différentes expériences)
- Variabilité inter-manipulateurs
- Variabilité inter-lots

Les données de variabilité sont exprimées en termes de valeur moyenne, d'écart type et de coefficient de variation, sur la base des valeurs de cycle seuil de quantification (Cq) de l'ARN SARS-CoV-2. Pour cela deux dilutions d'échantillons ont été testées : 1 forte (+++) et 1 faible (+).

GENE RdRp	Valeurs Cq moyennes CTRL+	Ecart type	Coefficient de variation %
Variabilité intra essai	26,1	0,1	0,2
Variabilité inter essais	27,76	0,49	1,76
Variabilité inter manipulateurs	26,99	0,1	0,39
Variabilité inter lots	27,93	0,38	1,35

GENE RdRp	Valeurs Cq moyennes ech +++	Ecart type	Coefficient de variation %
Variabilité intra essai	23,42	0,08	0,4
Variabilité inter essais	23,21	0,17	0,75
Variabilité inter manipulateurs	22,94	0,05	0,22
Variabilité inter lots	23,52	0,04	0,15

GENE RdRp	Valeurs Cq moyennes ech +	Ecart type	Coefficient de variation %
Variabilité intra essai	31,17	0,12	0,4
Variabilité inter essais	31,16	0,18	0,57
Variabilité inter manipulateurs	30,91	0,115	0,37
Variabilité inter lots	35,28	0,17	0,48

#### • Performances cliniques

##### Prélèvements nasopharyngés

Les performances cliniques ont été déterminées sur 1291 échantillons nasopharyngés rétrospectifs testés positifs et négatifs avec des kits de PCR SARS-CoV-2 marquées CE et figurant sur la liste des produits remboursables par la Caisse d'Assurance maladie française.

561 échantillons ont été collectés auprès de 3 laboratoires différents sous la forme d'extraits d'ARN purifiés et 730 sous la forme d'écouvillons nasopharyngés traités avec le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® Sample Collection et BIOSYNEX AMPLIQUICK® lysis.

Les résultats des performances du kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2 sont résumés ci-dessous.

Le tableau de contingence ci-dessous reprend les performances globales sur des prélèvements nasopharyngés extraits et purifiés à l'aide de kits commerciaux d'extraction d'ARN :

		RT-PCR de référence	
		Positif	Négatif
BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2	Positif	113	0
	Négatif	1	447*

\*17 échantillons caractérisés comme positifs se sont révélés négatifs avec le BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS CoV-2. Ces résultats ont été confirmés par un autre kit RT-PCR SARS-CoV-2 marqué CE. Ces 17 échantillons sont donc inclus dans les véritables échantillons négatifs.

Sensibilité : 99.12%  
(95% IC : 95.21% à 99.98%) Spécificité : 100%  
(95% IC : 99.18% à 100%)

Le tableau de contingence ci-dessous reprend les performances globales sur des prélèvements nasopharyngés non-extracts et traités avec le kit BIOSYNEX AMPLIQUICK® Lysis :

		RT-PCR de référence	
		Positif	Négatif
BIOSYNEX AMPLIQUICK® SARS-CoV-2	Positif	192	1
	Négatif	3	534

Sensibilité : 98.46%  
(95% IC : 95.57% à 99.68%) Spécificité : 99.81%  
(95% IC : 98.96% à 100%)

##### Prélèvements salivaires

Les performances cliniques sur prélèvement salivaire ont été réalisées sur un panel de 621 patients asymptomatiques et symptomatiques. Cette étude a permis le recrutement de 549 patients asymptomatiques et 72 patients dont les symptômes sont apparus dans les 6 derniers jours. L'ensemble des patients ont été testés par des PCR SARS-CoV-2 marquées CE (figurant sur la liste des produits remboursables par la Caisse d'Assurance maladie française) sur un prélèvement nasopharyngé.

GENE E	Valeurs Cq moyennes CTRL+	Ecart type	Coefficient de variation %
Variabilité intra essai	25,6	0,1	0,3
Variabilité inter essais	26,25	0,47	1,78
Variabilité inter manipulateurs	25,97	0,16	0,63
Variabilité inter lots	26,37	0,09	0,35

GENE E	Valeurs Cq moyennes ech +++	Ecart type	Coefficient de variation %
Variabilité intra essai	23,83	0,11	0,46
Variabilité inter essais	23,91	0,1	0,44
Variabilité inter manipulateurs	23,59	0,03	0,11
Variabilité inter lots	23,1	0,13	0,58

GENE E	Valeurs Cq moyennes ech +	Ecart type	Coefficient de variation %
Variabilité intra essai	31,49	0,14	0,45
Variabilité inter essais	32,15	0,33	1,04
Variabilité inter manipulateurs	31,92	0,34	1,06
Variabilité inter lots	39,5	0,21	0,54

### 13 BIBLIOGRAPHIE

- Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res* 2011;81:85-164 (Nov 2011).
- W. Guan et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China *NEnglJMed* (Apr 2020).
- Victor M Corman, Olfert Landt, Marco Kaiser, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance* 25;3;2000045 (Jan 2020).

### SYMBOLES

	Consulter la notice d'utilisation		Contenu suffisant pour <n> tests		Référence catalogue
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Limite de température		Ne pas réutiliser
	Fabricant		Numéro de lot		Date de péremption
	Contrôle négatif		Master Mix	APQ	AMPLIQUICK®
	Contrôle positif		Ne pas utiliser si l'emballage est abîmé		Importateur
	Mandataire Suisse				

IFU\_3150058\_FR\_V12202302R01  
Date de la dernière révision : 02/2023