

MANUEL D'UTILISATION

Bio-T kit[®] TriStar Covid-19

Cat. N° BIOTK121 - 500 réactions

Cat. N° BIOTK122 - 1000 réactions

Détection du coronavirus responsable du syndrome respiratoire aigu sévère 2 ou de la maladie Covid-19 (SRAS-CoV-2) par RT-PCR en temps réel (qRT-PCR) avec contrôle positif interne (IPC) exogène

HUMAIN

Types de prélèvements

- Ecouvillonnage naso-pharyngé profond (ENP) ou oral
- Prélèvements salivaires

Extractions des acides nucléiques (AN) recommandées par BioSella

- Billes magnétiques (ex : BioSella – BioExtract[®] SuperBall[®] Cat. N° BES384, BioSella – BioExtract[®] Premium Mag Cat. N° BEPM96, BEPM1K, BEPM2K, BEPM5K)
- Colonnes de silice (ex : BioSella – BioExtract[®] Column Cat. N° BEC050 ou BEC250)



Pour le Diagnostic in vitro



RENSEIGNEMENTS ADMINISTRATIFS

Nom et adresse du responsable de la mise sur le marché et du fabricant :

BioSellal, Bâtiment B, 27 chemin des Peupliers, 69570 Dardilly, France

Tél.: +33 (0)4.26.78.47.60 Fax +33 (0)4.78.44.10.68

Lieu de fabrication, de contrôle et de conditionnement :

BioSellal, Bâtiment B, 27 chemin des Peupliers, 69570 Dardilly, France

GESTION DES DOCUMENTS

Le Bio-T kit® TriStar Covid-19 dispose de deux manuels techniques :

- Un manuel d'extraction détaillant pour chaque type de prélèvement les méthodes d'extractions proposées par BioSella.
- Un manuel d'utilisation du Bio-T kit® TriStar Covid-19, détaillant les différentes étapes de préparation de la qRT-PCR.

Les dernières versions en vigueur de chacun des deux documents figurent dans le certificat d'analyse (CA) fourni avec le Bio-T kit® TriStar Covid-19.

En plus de ces 2 manuels, le dossier de validation ainsi que le manuel de vérification des performances du Bio-T kit® TriStar Covid-19 sont disponibles sur demande, contacter BioSella (contact@biosella.com).

GESTION DES REVISIONS

BioSella indique les modifications apportées à ce document en les surlignant selon les règles présentées dans le tableau ci-dessous :

Gestion des révisions			
Type de modification Couleur de Surlignage	Modifications mineures	Modifications majeures 1	Modifications majeures 2
Impact sur la révision/version	Changement de la date de révision du document Pas de changement de version	Changement de la date de révision du document + changement de version	Changement de la date de révision du document + changement de version
Impact sur l'adoption de la méthode autorisée	Aucun (sauf en cas d'adoption de nouvelle matrice)	Aucun	Nouvelle adoption nécessaire
Exemples de modifications	Corrections : typographique, grammaticale ou de mise en forme	Changement de référence d'un EPC	Modification de la recette du Master Mix
	Ajout de nouvelles matrices pour l'extraction	Changement de référence d'un IPC exogène	Modification du protocole d'extraction validé
	Ajout d'informations donnant plus de détails ou alternative à un protocole		
	Ajout/Suppression d'informations optionnelles		

PRESENTATION

Recommandations pour le prélèvement, l'envoi et la conservation des échantillons

La technique de RT-PCR en temps réel permet de révéler la présence de très faibles quantités de génome du pathogène. Celui-ci peut être plus ou moins rapidement dégradé selon la nature du pathogène (bactéries/parasites, virus enveloppés ou non...), la nature de son génome (ADN/ARN) et le type de prélèvement (présence de DNase/RNase). Ainsi, BioSella recommande de suivre les préconisations suivantes pour garantir un diagnostic optimal.

Prélèvements

Conformément à l'avis n° 2020.0020/AC/SEAP du 6 mars 2020 du collège de la Haute Autorité de santé, les **prélèvements naso-pharyngés** sont à réalisés le cas échéant au domicile du patient par un professionnel de santé autorisé (notamment médecin, biologiste médical, infirmière diplômée d'Etat) et portant les équipements de protection individuelle recommandés.

Afin de prévenir les contaminations croisées entre échantillons pouvant conduire à un résultat faussement positif, il est important d'utiliser du matériel de prélèvement à usage unique et d'éviter un contact direct entre chaque prélèvement.

Concernant les **prélèvements salivaires**, conformément à l'avis du 29 septembre 2020 de la Société Française de Microbiologie (SFM) relatif à la réalisation des prélèvements salivaires pour la détection du SARS-CoV-2 par RT-PCR dans le cadre du diagnostic/dépistage de la COVID-19 (version 2 du 21/02/2021), le dispositif de prélèvement doit être hermétiquement fermé, décontaminé avec un traitement désinfectant usuel virucide et être clairement identifié (nom, prénom, date de naissance, date et heure du recueil du prélèvement).

Envoi

Les prélèvements sont à adresser au laboratoire de biologie médicale dans un conditionnement en triple emballage qui permet d'identifier les échantillons à risque SRAS-CoV-2 et de sécuriser le transport conformément aux recommandations de la Société Française de Microbiologie.

L'envoi doit se faire sous couvert du froid positif en 12h maximum pour un rendu de résultats idéalement dans les 24 heures.

Conservation après réception

Les analyses doivent être effectuées à *minima* dans un laboratoire de sécurité biologique de niveau 2 (LSB2). Traitement des échantillons pour analyse, immédiatement après réception et conservation à 5°C ± 3 durant 5 jours maximum (pour ré-analyse ultérieure si nécessaire) puis congélation à ≤ -16°C pour quelques mois et à ≤ -65°C au-delà de 1 an.

Description du Bio-T kit® TriStar Covid-19

Le **Bio-T kit® TriStar Covid-19** (Cat. N° BIOTK121/BIOTK122) contient un **Master Mix RT-PCR one-step prêt à l'emploi**, permettant de **détecter dans le même puits réactionnel**, la présence :

- Du **gène E des virus du genre Sarbecovirus, incluant le SRAS-CoV-2**, grâce à un marquage 6-FAM,
- De l'**ORF1ab (RdRp) du SRAS-CoV-2** grâce à un marquage VIC,
- D'un **contrôle positif exogène IPC**, grâce à un marquage Cy5, à ajouter, lors de l'extraction des acides nucléiques, afin de valider la qualité de l'extraction des acides nucléiques et l'absence d'inhibition de la réaction d'amplification.

Le système de détection de l'**ORF1ab** est un produit sous licence de l'Institut Pasteur.

Les méthodes d'extraction proposées sont décrites dans le manuel d'extraction du **Bio-T kit® TriStar Covid-19**.

Lors de l'extraction des échantillons, il est nécessaire d'ajouter 5 µl d'IPC exogène par échantillon. Se reporter à la notice d'extraction pour plus d'information.

Domaine d'application du Bio-T kit® TriStar Covid-19

Ce kit permet une détection qualitative du coronavirus responsable du syndrome respiratoire aigu sévère 2 ou de la maladie Covid-19 (SRAS-CoV-2) (détecté ou non détecté).

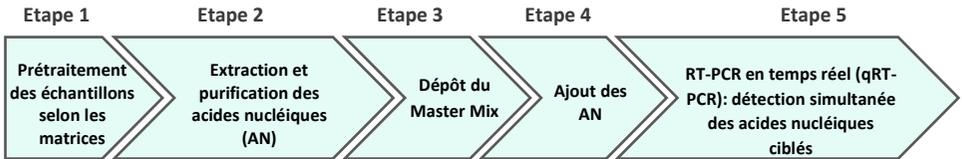
Ce kit a fait l'objet d'une évaluation de performance par le Centre National de Référence des Virus des Infections Respiratoires. Le rapport est disponible sur le site de la Société française de microbiologie.

MODALITES DE GESTION DU RISQUE RELATIF A L'UTILISATION DU KIT ET D'ELIMINATION DES REACTIFS

La mise en œuvre du protocole de RT-PCR associé au Bio-T Kit® TriStar Covid-19 ne génère aucun risque pour le manipulateur et l'environnement. Toutefois, il est recommandé d'éviter tout contact entre les réactifs et la peau. En cas de contact, laver abondamment à l'eau puis contacter un médecin.

Il est à noter que la mise en œuvre des protocoles d'extraction associés au Bio-T® kit TriStar Covid-19 génère un risque chimique et biologique pour le manipulateur et l'environnement. Se référer à la notice d'extraction du Bio-T Kit® TriStar Covid-19 ainsi qu'aux fiches de données de sécurité des produits utilisés pour plus d'informations.

Description des étapes à suivre de l'échantillon jusqu'au résultat de qRT-PCR



Manuel d'extraction du Bio-T kit® TriStar Covid-19		Manuel d'utilisation du Bio-T kit® TriStar Covid-19		
Ecouvillonnage naso-pharyngé profond (ENP) ou oral Salive*	BioExtract® SuperBall® BioExtract® Premium Mag BioExtract® Column	Master Mix prêt à l'emploi MMTRISTARCOV-B	Echantillons NC/NCS Témoin positif de processus EPC (EPCTRISTARCOV-A)	Détecteurs : FAM/VIC/Cy5 Référence passive : ROX Programmes : TRISTAR TRISTAR FAST en ramping Standard

* prétraitement possible

Contenu du kit et conditions de conservation

Tableau 1. Descriptif du contenu du kit

Description	Référence	Volume / tube		Présentation	Conservation
		BIOTK121 500 réactions	BIOTK122 1000 réactions		
Master Mix (MM) Prêt à l'emploi	MMTRISTARCOV-B	7500 µl	2x7500 µl	tube bouchon gris Sachet A	≤-16°C à l'abri de la lumière, Zone « MIX »
Internal Control (IPC) exogène Contrôle d'amplification exogène	IPCTRISTAR-B	2500 µl	2x2500 µl	tube bouchon gris Sachet B	≤-16°C Zone « Extraction »
External Positive Control (EPC) Contrôle positif d'amplification du SRAS-CoV-2	EPCTRISTARCOV-A		200 µl	tube bouchon rouge Sachet C	≤-16°C Zone « Ajout d'acides nucléiques »
Eau RNase/DNase free	Aqua-A		1 ml	1 tube bouchon bleu Sachet C	5°C ± 3 ou ≤-16°C Zone « Ajout d'acides nucléiques »

Les réactifs du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le sachet, sous réserve du bon respect des conditions de conservation.

Liste des consommables et réactifs non fournis dans le kit

Tableau 2. Consommables et réactifs non fournis dans le kit

Consommable / Réactif	Description	Fournisseur	Cat. N°
Tampon ATL	Tampon de Lyse	BioSellal	ATL19076
BioExtract® Column	Kit d'extraction ADN/ARN format colonne (50)	BioSellal	BEC050
BioExtract® Column	Kit d'extraction ADN/ARN format colonne (250)	BioSellal	BEC250
BioExtract® SuperBall®	Kit d'extraction ADN/ARN format billes magnétiques (4 x 96)	BioSellal	BES384
BioExtract® Premium Mag	Kit d'extraction ADN/ARN format billes magnétiques	96	BEPM96
		1 000	BEPM1K
		2 000	BEPM2K
		5 000	BEPM5K

Pour les consommables liés au thermocycleur, se reporter au manuel d'utilisation de l'appareil.

Liste des réactifs de vérification des performances

Pour les adoptions de qRT-PCR, les ARN transcrits de SRAS-CoV-2 (*gène E* et l'*ORF1ab*, titrés en nombre de copies/qRT-PCR). Pour les adoptions de méthode et/ou le suivi dans le temps des performances du process, un Matériaux de Référence Interne (MRI) pour les écouvillons naso-pharyngé est également proposé. BioSellal commercialise ces réactifs sous les références suivantes :

Tableau 3. Réactifs en option*

Réactif	Description	Fournisseur	Cat. N°
ARN SRAS-CoV-2 <i>gène E</i>	ARN <i>gène E</i> SRAS-CoV-2 quantifié (6.10 ⁴ copies/qRT-PCR)	BioSellal	cARN-ESRAS-001
ARN SRAS-CoV-2 <i>ORF1ab</i>	ARN <i>ORF1ab</i> SRAS-CoV-2 quantifié (3.10 ⁴ copies/qRT-PCR)	BioSellal	cARN-IPSRAS-001
MRI SRAS-CoV-2	ENP positif SRAS-CoV-2 inactivé	BioSellal	MRI-COVID-001

*Ces réactifs sont disponibles uniquement sur demande, contacter BioSellal (contact@biosellal.com).

Principales précautions à appliquer

- Porter les équipements de protection individuelle appropriés (*a minima* : blouse, gants jetables, voire lunettes de protection, masque FFP3 selon les risques zoonotiques...).
- Travailler dans des zones dédiées et séparées afin d'éviter toute contamination : « Extraction » (stockage des échantillons non extraits, zone avec matériel d'extraction), « MIX » (stockage des Master Mix prêts à l'emploi, préparation de plaques qPCR), « Ajout d'AN » (stockage et addition des acides nucléiques extraits et des contrôles dans la plaque qPCR), « PCR » (zone finale, contenant le(s) thermocycleur(s)).
- Utiliser des équipements dédiés pour chaque zone de travail (gants, blouse, pipettes, vortex ...).
- Décongeler tous les réactifs stockés à $\leq -16^{\circ}\text{C}$ avant utilisation.
- Vortexer et centrifuger brièvement (centrifugeuse de paillasse) tous les réactifs juste avant utilisation.
- **Les Master-Mix pour RT-PCR one-step sont plus fragiles que les Master-Mix pour PCR. Afin de garantir le maintien de leurs performances, il est obligatoire de décongeler les tubes extemporanément avant leur utilisation, de bien les vortexer juste avant emploi, de les conserver à $5^{\circ}\text{C} \pm 3$ lors du dépôt et de les recongeler aussitôt après.**
- Utiliser des pointes à filtre.
- Il est recommandé de ne pas excéder 3 cycles de congélation-décongélation des réactifs, des échantillons, des lysats, et des acides nucléiques extraits. Suivant votre utilisation, nous vous préconisons de faire des fractions aliquotes de volume adéquat.
- **Le génome du SRAS-CoV-2 est à ARN. Travailler avec de l'ARN étant plus exigeant que de travailler avec de l'ADN (instabilité de l'ARN et omniprésence des RNases), il est recommandé d'appliquer par défaut les précautions liées à l'utilisation de l'ARN:**
 - o Toujours porter des gants et les changer fréquemment notamment après tout contact avec la peau, les paillasses ou le matériel.
 - o Traiter toutes les surfaces et les équipements avec des agents d'inactivation des RNases (disponibles dans le commerce).
 - o Après avoir mis des gants et décontaminé le matériel, minimiser les contacts avec les surfaces et les équipements pour éviter la réintroduction des RNases.
 - o Utiliser des consommables « RNases free ».
 - o Il est recommandé de conserver les ARN réfrigérés pendant la manipulation puis de les congeler dès que possible de préférence à $\leq -65^{\circ}\text{C}$ ou à défaut à $\leq -16^{\circ}\text{C}$.
 - o Ouvrir et refermer individuellement les tubes au fur et à mesure et limiter les durées d'ouverture afin d'éviter le contact avec les RNases présentes dans l'environnement (peau, poussières, surfaces de travail...).

DETECTION DU SRAS-CoV-2 PAR qRT-PCR AVEC LES KITS BIOTK121/BIOTK122

Procédure globale à suivre

1) Etablir un plan de plaque définissant la position de chaque échantillon et incluant les contrôles décrits ci-dessous :

- **Contrôle négatif de processus (NCS)** : l'eau (ou PBS) remplace l'échantillon depuis le stade initial d'extraction voir de prétraitement.
Ce contrôle est obligatoire pour chaque série d'extraction.
- **Contrôle négatif d'amplification (NC)** : 5 µl d'eau RNase/DNase free remplace les 5 µl d'extrait d'acides nucléiques au moment du dépôt sur la plaque qRT-PCR. Le tube Aqua-A (bouchon **bleu**) fourni peut être utilisé.
Ce contrôle est recommandé lors de la 1ère utilisation du kit ou pour vérifier l'absence de contamination du Master Mix suite à un résultat non conforme avec le NCS.
- **Contrôle positif d'amplification de SRAS-CoV-2 (EPC)** : il s'agit d'ADN synthétique (tube **EPCTRISTARCOV-A**, bouchon **rouge**), contenant les séquences cibles spécifiques de SRAS-CoV-2 gène *E* et *ORF1ab*.
Ce contrôle est obligatoire sauf en cas d'utilisation d'un témoin positif de processus.

⚠ ATTENTION : *En raison de la grande sensibilité de la technique de RT-PCR en temps réel, de bonnes pratiques de laboratoire sont essentielles à la bonne réalisation de ce test. Aussi, il faut veiller à ce que les réactifs ne soient pas contaminés. Pour cela, il est recommandé notamment d'ouvrir et de manipuler le contrôle positif (EPC) dans une zone délimitée, éloignée des autres composants et de prendre les précautions nécessaires pour éviter toute contamination croisée avec des échantillons lors du dépôt sur la plaque. Les contrôles négatifs NC et NCS permettent d'assurer respectivement l'absence de contamination du Master Mix et du process global incluant l'extraction. En cas de positivité de ces contrôles, se reporter au tableau page 14.*

- Si disponible, **Témoin positif de processus « sentinelle », MRI**, un échantillon POSITIF inactif faiblement chargé est extrait en même temps que les échantillons en un ou plusieurs exemplaires (selon le nombre d'échantillons analysés). Après qRT-PCR, la valeur de Ct de ce témoin d'extraction sera reportée et suivie dans le temps sur une carte de contrôle. Le fait d'obtenir, après extraction et qRT-PCR, une valeur de Ct attendue avec ce témoin positif valide l'ensemble de la méthode. Dans ce cas, l'utilisation de l'EPC livré avec ce kit n'est plus obligatoire. BioSellaal propose également un MRI **ENP** prêt à l'emploi (Cat. N°MRI-COVID-001), pour plus d'informations, contacter BioSellaal.

2) Préparation de la plaque

Dans la zone réservée au «MIX »

1. Après décongélation, vortex et brève centrifugation, **transférer 15 µl de Master Mix MMTRISTARCOV-B** (tube bouchon gris) dans chaque puits d'intérêt (échantillons et contrôles).

⚠ Les Master-Mix pour RT-PCR one-step sont plus fragiles que les Master-Mix pour PCR. Afin de garantir le maintien de leurs performances, il est obligatoire de décongeler les tubes extemporanément avant leur utilisation, de bien les vortexer juste avant emploi, de les conserver à 5°C ± 3 lors du dépôt et de les recongeler aussitôt après.

Dans la zone dédiée à l'ajout des acides nucléiques

2. **Ajouter 5 µl d'acides nucléiques extraits (ou NCS, eau, MRI ou EPC: tube EPCTRISTARCOV-A, bouchon rouge)** par puits d'intérêt, en veillant à les déposer bien au fond du puits, au contact du Master Mix et en évitant de faire des bulles.

Note : dans le cas où l'IPC exogène n'aurait pas été ajouté lors de l'extraction des échantillons, il est possible de l'ajouter au moment de la préparation de la plaque qRT-PCR.

- **Ajouter 1 µl d'IPC (bouchon gris) en plus des acides nucléiques extraits**

- Ou ajouter directement l'IPC (1 µl par réaction) dans un aliquote de Master Mix avant de déposer 16 µl de ce mélange dans chaque puits d'intérêt et d'y ajouter 5 µl d'acides nucléiques extraits. Le volume réactionnel sera porté à 21 µl final, sans impacter l'efficacité de la qRT-PCR.

3. Filmer la plaque avec le film optique ou fermer les tubes avec les capuchons optiques adaptés.

Dans la pièce dédiée à l'amplification PCR

4. **Paramétrer le thermocycleur** (voir Tableau 4, Tableau 5, Tableau 6)
5. Il est recommandé de **centrifuger la plaque avant de la positionner dans le thermocycleur**, ceci permettra d'éviter la présence de gouttes sur les parois et d'éliminer au maximum les bulles et de placer les acides nucléiques au contact du Master Mix.
6. Démarrer le programme. Durée de run approximative de 90 min pour le programme TRISTAR et 60 min pour le programme TRISTAR FAST

3) Paramètres de réglage du thermocycleur

Ce kit a été développé sur AriaMx™ (Agilent Technologies, ramping Fast par défaut) et confirmé sur ABI PRISM® 7500 Fast (Applied Biosystems) et sur QuantStudio 5 Real Time PCR system (Applied Biosystems) en ramping standard. Il est compatible avec tous les thermocycleurs possédant à minima les canaux de lectures 6-FAM, VIC et Cy5. Pour plus d'information, contacter notre support technique.

Tableau 4. Configuration du thermocycleur		
ABI PRISM® 7500 Fast/ QuantStudio™ 5		AriaMx™
Mode	Quantitation – Standard curve	Quantitative PCR, Fluorescence Probe
Ramping	Ramping Standard	Ramping Fast par défaut
Référence passive	ROX	ROX

Tableau 5. Paramètres de réglage du thermocycleur			
Cible	Détecteurs		Volume final / puits
	Reporter	Quencher	
Gène E	FAM	NFQ-MGB ou None*	20 µl = 15 µl Master Mix + 5 µl d'acides nucléiques ou contrôles [†]
ORF1ab	VIC	NFQ-MGB ou None*	
IPC exogène	Cy5	NFQ-MGB ou None*	
à attribuer aux échantillons et contrôles [†]			

* Choix variable suivant le modèle de thermocycleur, si besoin contacter le Support Technique de BioSellaal (tech@biosellaal.com)

† Les contrôles sont les NC (eau), NCS (eau extraite), le témoin de processus, et EPC (ADN cible de SRAS-CoV-2).

Tableau 6. Paramétrage du PROGRAMME TRISTAR		
Ramping Standard		
Cycles	Temps	Température
1 cycle	20 min	50°C
1 cycle	5 min	95°C
40 cycles	10 sec	95°C
	45 sec	60°C
	+ acquisition des données	

Un programme rapide a également été validé pour la matrice écouvillon naso-pharyngé :

Tableau 7. Paramétrage du PROGRAMME TRISTAR FAST		
Ramping Standard		
Cycles	Temps	Température
1 cycle	10 min	50°C
1 cycle	5 min	95°C
40 cycles	5 sec	95°C
	25 sec	60°C
	+ acquisition des données	

INTERPRETATION DES RESULTATS

Afin d'analyser et d'interpréter les signaux obtenus après qRT-PCR, il est nécessaire de placer la ligne seuil ou « threshold ». Elle doit être positionnée soigneusement afin d'obtenir le résultat le plus reproductible possible entre les différentes manipulations. Pour cela, on utilise un ensemble cohérent de signaux positifs, *a minima* le témoin positif (EPC), et on place la ligne seuil au-dessus du bruit de fond, et dans la zone exponentielle d'amplification.

Le cycle seuil, nommé « Ct » ou « Cq » en fonction des thermocycleurs, correspond à l'intersection entre les courbes d'amplification et la ligne seuil. Il permet la mesure relative de la concentration de la cible dans la réaction de RT-PCR lorsqu'un extrait calibré est analysé dans la même série.

La série de qRT-PCR est validée si les contrôles (EPC, Témoin positif de processus, NCS ou NC) fournissent des résultats valides, puis le résultat de chaque échantillon peut être interprété.

Attention :

Un résultat « Négatif ou Non détecté » pour l'échantillon testé n'exclue pas l'infection par le SRARS-CoV-2 et ne doit pas être utilisé comme seule base pour les décisions de prise en charge des patients. Un résultat négatif doit être associé aux observations cliniques, aux antécédents du patient et aux informations épidémiologiques.

Un résultat « Positif ou Détecté » pour l'échantillon testé indique la présence de l'ARN du SRAS-CoV-2, cependant, une corrélation clinique avec les antécédents du patient et d'autres informations diagnostiques sont nécessaires pour déterminer le statut d'infection du patient. En outre, un résultat « Positif ou Détecté » n'exclue pas une infection bactérienne ou une co-infection avec d'autres virus.

Principaux cas de figures

Lecture des Contrôles

Tableau 8. Différents scénarios de résultats concernant les contrôles

	Cibles			Interprétation
	Gène E (FAM)	ORF1ab (VIC)	IPC exogène (Cy5)	
NCS Contrôle Négatif de processus OBLIGATOIRE	Neg	Neg	Pos [‡]	Validé
	Au moins une des deux valences Pos		Pos [‡]	Contamination avec un échantillon positif lors de l'extraction ou de la préparation de la plaque. Dans ce cas, il est conseillé de renouveler l'extraction des échantillons en y incluant de nouveaux NCS en plus grand nombre puis de renouveler le test de RT-PCR. Si la contamination persiste elle peut venir soit d'une contamination environnementale de vos locaux, soit du Master Mix. La dernière éventualité peut être évaluée en déposant de 24 à 48 points de NC sans autres échantillons ou contrôle sur une plaque de RT-PCR. En cas de positivité de ce test, jeter le tube de Master Mix.
	Neg	Neg	Neg	Oubli d'ajout de l'IPC exogène ? Extraction défectueuse.
NC Contrôle Négatif d'amplification FACULTATIF	Neg	Neg	Neg	Validé
	Au moins une des trois valences Pos			Contamination avec un échantillon négatif/positif lors de la préparation de la plaque ou contamination du Master Mix. Afin de vérifier cette hypothèse, il est conseillé de déposer 24 à 48 points de NC sans autres échantillons ou contrôle sur une plaque de RT-PCR. En cas de positivité de ce test, jeter le tube de Master Mix.
EPC Contrôle Positif d'amplification de SRAS-CoV-2 OBLIGATOIRE <i>EN ABSENCE DU TEMOIN POSITIF DE PROCESSUS</i>	Pos [*]	Pos [*]	Neg	Validé
	Neg	Neg	Neg	Problème lors de la qRT-PCR: Erreur de Master Mix ? Oubli de l'EPC ?
	Pos [*]	Pos [*]	Pos	Contamination lors de la préparation de la plaque par un échantillon.
Témoin positif de processus MRI RECOMMANDE <i>SI DISPONIBLE</i>	Pos [†]	Pos [†]	Pos [‡]	Validé
	Neg	Neg	Neg	Problème lors de la qRT-PCR: Erreur de Master Mix ? Oubli d'ajout des acides nucléiques ou dépôt non au contact du Master Mix lors de la préparation de la plaque ? Dérive du processus : extraction et/ou qRT-PCR ? Dégradation de l'échantillon contrôle ?
	Neg	Neg	Pos [‡]	Dégradation de l'échantillon contrôle ? Dérive du processus : extraction (si ajout dans la qRT-PCR)

* La valeur de Ct obtenue doit être conforme à la valeur donnée sur le certificat d'analyse (CA).

† La valeur de Ct doit être comprise dans les limites de la carte de contrôle

‡ La valeur de Ct obtenue dépend du thermocycleur, de la matrice analysée et des méthodes d'extractions utilisées. La valeur d'IPC déposée directement dans le MasterMix est indiquée sur le certificat d'analyse du lot. Des valeurs d'IPC, obtenues à partir des différentes matrices avec les méthodes proposées par BioSella sont disponibles sur demande. BioSella recommande au laboratoire de déterminer sa propre valeur maximum de l'IPC tolérée en fonction de sa méthode d'extraction et de son thermocycleur.

Lecture des Echantillons extraits

Tableau 9. Différents types de résultats pouvant être obtenus pour les échantillons

Tableau 9. Différents types de résultats pouvant être obtenus pour les échantillons			
Gène E (FAM)	Cibles		Interprétation
	ORF1ab (VIC)	IPC exogène (Cy5)	
Neg	Neg	Pos*	Négatif ou Non détecté
Pos	Pos		Positif ou Détecté Détection du génome du SRAS-CoV-2
Pos	Neg [‡]		Positif ou Détecté[‡] Détection du gène E des virus du genre sarbecovirus
Neg	Pos [‡]		Positif ou Détecté[‡] Détection de l'ORF1ab du SRAS-CoV-2
Pos	Pos	Neg ou Ct>35	Positif ou Détecté Détection du génome du SRAS-CoV-2 Problème lors de l'ajout de l'IPC exogène ? Présence d'inhibiteurs [†] ? Compétition avec la cible ?
Une des deux valences Neg		Neg ou Ct>35	Positif ou Détecté pour la valence positive Ininterprétable pour la valence négative = analyse à refaire. Oubli d'ajout de l'IPC exogène à l'extraction et/ou à la qRT-PCR Présence d'inhibiteurs [†] ? Dégradation des acides nucléiques dans l'échantillon ? Problème lors de l'extraction ? Compétition avec la cible ?
Neg	Neg	Neg ou Ct>35	Ininterprétable = analyse à refaire Oubli d'addition des acides nucléiques extraits ou dépôt non au contact du Master Mix lors de la préparation de la plaque ? Présence d'inhibiteurs [†] ? Dégradation des acides nucléiques dans l'échantillon ? Problème lors de l'ajout de l'IPC exogène ? Problème lors de l'extraction ?

* La valeur de Ct obtenue dépend du thermocycleur, de la matrice analysée et des méthodes d'extractions utilisées. La valeur d'IPC déposé directement dans le MasterMix est indiquée sur le certificat d'analyse (CA). Des valeurs d'IPC, obtenues à partir des différentes matrices avec les méthodes proposées par BioSella, sont disponibles sur demande. BioSella recommande au laboratoire de déterminer sa propre valeur maximum de l'IPC tolérée en fonction de sa méthode d'extraction et de son thermocycleur.

† En cas de suspicion d'inhibition, 1) Répéter la qRT-PCR en prédiluant les acides nucléiques extraits au 1/10 voire au 1/100 dans de l'eau DNase/RNase free ou 2) Reprendre l'analyse depuis l'extraction.

‡ Les échantillons positifs pour le SRAS-CoV-2 doivent l'être à la fois en gène E et en ORF1ab. Le gène E n'étant pas spécifique du SRAS-CoV-2, il est possible que le résultat positif en gène E et négatif en ORF1ab corresponde à la présence d'un autre coronavirus du genre sarbecovirus. En cas d'échantillon en limite de détection (Ct>35), le résultat peut être discordant entre les deux cibles. Aussi, BioSella recommande de répéter l'analyse. En cas d'échantillon à nouveau discordant après re-contrôle, BioSella recommande d'effectuer un séquençage de la souche pour mettre en évidence d'éventuelles mutations ou la présence d'un virus du genre sarbecovirus autre que le SRAS-CoV-2.

PERFORMANCES DU BIO-T KIT® TRISTAR COVID-19

Les données de validations du Bio-T kit® Tristar Covid-19 sont détaillées dans le dossier de validation du kit. Afin de se conformer à la directive 98/79/CE, les performances sont indiqués ci-dessous.

Caractérisation de la qRT-PCR en programme TRISTAR

1) Vérification de la spécificité analytique

In silico

La spécificité analytique *in silico* a été vérifiée par l'analyse des séquences de l'ensemble des séquences du SRAS-CoV-2, disponibles dans les banques de données publiques (GenBank, NCBI) et la réalisation d'alignements à l'aide du logiciel MegAlign Pro (DNASTar® Lasergene®).

La spécificité *in silico* a été confirmée par alignement à l'aide de l'outil en ligne BLAST.

Inclusivité expérimentale

Le Bio-T kit® SRAS-CoV-2 permet de détecter la présence de deux gènes cibles du SRAS-CoV-2. Le système d'amorces et sondes permettant la détection du *gène E* (marquage 6-FAM) choisi par BioSella est issu du protocole publié par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) datant du 17 janvier 2020. Le système d'amorces et sondes permettant la détection de l'*ORF1ab* du SRAS-CoV-2 (marquage VIC) choisi par BioSella est un produit sous licence de l'Institut Pasteur. Aussi, la spécificité analytique est garantie par les publications initiales pour ces deux systèmes de détection. Pour plus d'information, n'hésitez pas à contacter le support technique de BioSella.

Des données d'inclusivité expérimentale ont été transmises par un laboratoire partenaire réalisant des tests de détection du SRAS-CoV-2 avec le Bio-T kit® Tristar Covid-19. Aussi, 13 échantillons provenant de patients statués positifs pour le SRAS-CoV-2 avec une technique de référence (technique interne) ont été extraits à l'aide du BioExtract® Premium Mag selon le protocole détaillé dans le manuel d'extraction du Bio-T kit® Tristar Covid-19 puis analysés avec le Bio-T kit® Tristar Covid-19 selon le protocole détaillé page 11. Les données comparatives détaillées dans le paragraphe « sensibilité et spécificité diagnostique » démontrent que les 13 échantillons attendus positifs avec la technique de référence sont bien positifs pour les deux cibles du Bio-T kit® Tristar Covid-19.

Exclusivité expérimentale

L'exclusivité expérimentale a été vérifiée sur des virus, bactéries ou parasites présents dans les mêmes niches écologiques ou conduisant à des pathologies ou signes cliniques similaires à ceux liés à la présence de SRAS-CoV-2.

Données brutes obtenues pour les virus, bactéries et parasites testés

Souche	Résultat
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Non Détecté
<i>K. pneumoniae</i>	Non Détecté
<i>Streptococcus pyrogenes</i>	Non Détecté
<i>E. coli/579</i>	Non Détecté
Leptospires pathogènes	Non Détecté
<i>Mycobacterium bovis</i>	Non Détecté
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Non Détecté
<i>E. cloacae</i>	Non Détecté
<i>S. marcescens</i>	Non Détecté
<i>S. aureus</i>	Non Détecté
<i>P. aeruginosa</i>	Non Détecté
<i>C. Burnetii</i>	Non Détecté
Influenza A H3N2	Non Détecté
Influenza A H1N1	Non Détecté
Influenzavirus type A A/California/07/2009NYMC X-179A	Non Détecté
Influenza A virus (H3N2) strain A/Virginia/ATCC6/2012	Non Détecté
Influenza A virus (H3N2) A/Aichi/2/68	Non Détecté
Influenza B virus, Strain B/Taiwan/2/62	Non Détecté
NOVEL INFLUENZA A H1N1 (MBC082)	Non Détecté
Human coronavirus 229E	Non Détecté
Human coronavirus OC43	Non Détecté
Human coronavirus NL63	Non Détecté
Human coronavirus HKU1	Non Détecté
<i>Chlamydomydia pneumoniae</i> CM-1	Non Détecté
Enterovirus 68	Non Détecté
Enterovirus 71	Non Détecté
Enterovirus Echovirus 4	Non Détecté
Haemophilus influenzae	Non Détecté
Human Adenovirus 1	Non Détecté
Human Adenovirus 2	Non Détecté
Human Adenovirus 3	Non Détecté
Human Adenovirus 4	Non Détecté
Human Adenovirus 5	Non Détecté
Human Adenovirus 7	Non Détecté
Human parainfluenza 2	Non Détecté
<i>Bordetella holmesii</i> (MBC092)	Non Détecté
<i>Bordetella parapertussis</i> (MBC007)	Non Détecté
<i>Legionella pneumophila</i> (MBC031)	Non Détecté
<i>Moraxella catarrhalis</i> (MBC117)	Non Détecté
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> (MBC035)	Non Détecté
Parainfluenza 3 (MBC039)	Non Détecté
Parainfluenza 4 a (MBC050)	Non Détecté
Rhinovirus (MBC091)	Non Détecté
Respiratory Syncytial Virus (Subtype A) (MBC041)	Non Détecté
Respiratory Syncytial Virus (Subtype B) (MBC083)	Non Détecté
Human Respiratory Syncytial Virus, Strain Long	Non Détecté
Human Respiratory Syncytial Virus, 9320	Non Détecté
Human Respiratory Syncytial Virus, ATCC-2012-11	Non Détecté
Human Respiratory Syncytial Virus, A2	Non Détecté

- ⇒ La spécificité analytique du Bio-T kit® TriStar Covid-19 a été confirmée *in silico* et expérimentalement sur l'ensemble des séquences présentes dans les banques de données et sur l'ensemble des isolats testés.

2) Détermination de la sensibilité analytique : LD_{RT-PCR}

La limite de détection de la qRT-PCR (LD_{RT-PCR}) correspond au nombre minimal de copies d'acides nucléiques cible détecté par le système dans 95 % des cas.

Elle a été déterminée expérimentalement pour chaque gène ciblé, en utilisant les ARN transcrits du gène *E* et de l'*ORF1ab* du SRAS-CoV-2, quantifiés par fluorimétrie en nombre de copies de séquence cible par qRT-PCR (nombre de copies dans 5 µl).

Le Bio-T kit® TriStar Covid-19 est un triplex permettant la détection simultanée de deux gènes du virus. Ces deux gènes sont présents à raison d'une copie chacun par génome viral. Aussi, BioSellal a déterminé les LD_{RT-PCR} lorsque chaque cible est présente avec un ratio équimolaire (1 copie de gène *E* + 1 copies d'*ORF1ab* par exemple).

Une première approche par des dilutions sériées de 10 en 10 a permis d'estimer la LD_{RT-PCR} entre 10 et 100 copies d'ARN par RT-PCR pour le gène *E* du SRAS-CoV-2 et entre 1 et 10 copies d'ARN par RT-PCR pour l'*ORF1ab* du SRAS-CoV-2. Des gammes de raison 2 sont réalisées de 80 à 2,5 copies par RT-PCR pour le gène *E* du SRAS-CoV-2 et de 40 à 1,25 pour l'*ORF1ab* du SRAS-CoV-2 afin d'encadrer sur 6 dilutions la valeur estimée de la LD_{RT-PCR}.

Plan d'expérience

Nombre de dilutions	Nombre de répliques par dilution et par série	Nombre de séries indépendantes
6	8	3

Données obtenues pour la valence gène *E* du SRAS-CoV-2:

Nombre de copies /RT-PCR*	Nombre de répliques détectées			Nombre de répliques détectées	Fréquence de détection
	Série 1	Série 2	Série 3		
80	8/8	8/8	8/8	24/24	100 %
40	8/8	8/8	8/8	24/24	100 %
20	8/8	8/8	8/8	24/24	100 %
10	8/8	8/8	6/8	22/24	92 %
5	5/8	3/8	6/8	14/24	58 %
2,5	4/8	3/8	3/8	10/24	42 %

*L'ARN transcrit de l'*ORF1ab* est également présent en ratio équimolaire (par exemple 10 copies de gène *E* + 10 copies de l'*ORF1ab*)

- ⇒ L'approche expérimentale indique que la LD_{RT-PCR} à 95 % pour le gène *E* (dernière dilution donnant au minimum 23 résultats positifs / 24) est de 20 copies/RT-PCR.

Données obtenues pour la valence **ORF1ab** du SRAS-CoV-2:

Nombre de copies /RT-PCR*	Nombre de répliques détectées			Nombre de répliques détectées	Fréquence de détection
	Série 1	Série 2	Série 3		
40	8/8	8/8	8/8	24/24	100 %
20	8/8	8/8	8/8	24/24	100 %
10	8/8	8/8	8/8	24/24	100 %
5	8/8	8/8	8/8	24/24	100 %
2,5	6/8	7/8	7/8	14/24	83 %
1,25	4/8	3/8	3/8	10/24	63 %

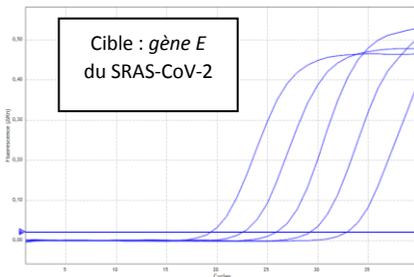
*L'ARN transcrit du *gène E* est également présent en ratio équimolaire (par exemple 10 copies de *gène E* + 10 copies de l'**ORF1ab**)

⇒ **L'approche expérimentale indique que la LD_{RT-PCR} à 95 % pour l'**ORF1ab** (dernière dilution donnant au minimum 23 résultats positifs /24) est de 5 copies/RT-PCR.**

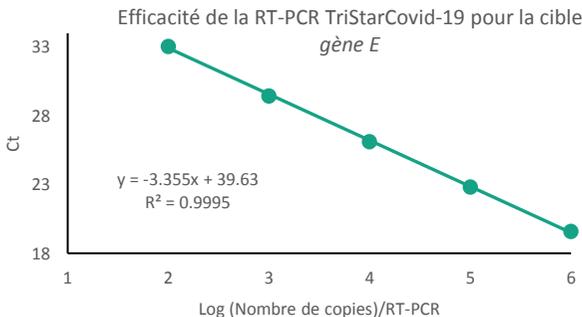
3) Efficacité

Les efficacités de chaque qRT-PCR ciblant les deux gènes du SRAS-CoV-2 ont été déterminées à partir de dilutions en série de 10 en 10 des ARN transcrits quantifiés par fluorimétrie en nombre de copies de séquence cible par RT-PCR (copies dans 5 µl).

Comme précédemment, l'efficacité a été évaluée lorsque chaque cible est présente avec un ratio équimolaire (1 copie de *gène E* + 1 copies de **ORF1ab** par exemple).

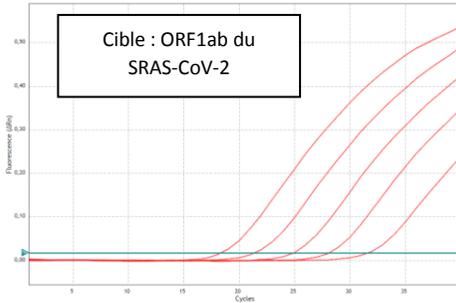


copies/RT-PCR	Ct
1 x 10 ⁶	19,60
1 x 10 ⁵	22,82
1 x 10 ⁴	26,12
1 x 10 ³	29,45
1 x 10 ²	33,06

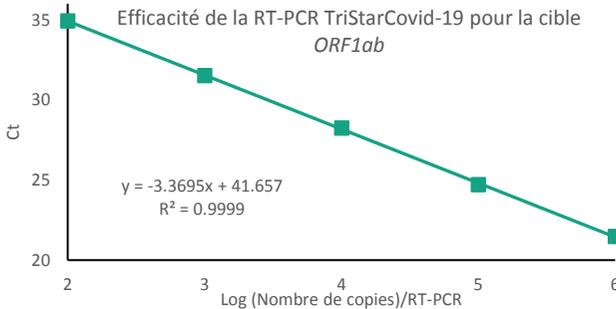


L'efficacité déduite de la pente de la droite est de : $E = (10 - 1 / \text{pente} - 1) \times 100 = 98,6 \%$

⇒ **L'efficacité du Bio-T kit® TriStar Covid-19 est de 98,6% pour le *gène E* du SRAS-CoV-2.**



copies/RT-PCR	Ct
1 x 10 ⁶	18,66
1 x 10 ⁵	21,75
1 x 10 ⁴	25,16
1 x 10 ³	28,40
1 x 10 ²	31,94



L'efficacité déduite de la pente de la droite est de : $E = (10^{-1/\text{pente}} - 1) \times 100 = 100,7\%$

⇒ L'efficacité du Bio-T kit® TriStar Covid-19 est de 100,7% pour l'**ORF1ab** du SRAS-CoV-2.

4) Répétabilité, fidélité intermédiaire et robustesse de la RT-PCR

Répétabilité

La répétabilité de la qRT-PCR a été déterminée à partir de dilutions des ARN transcrits de SRAS-CoV-2 afin d'obtenir trois niveaux de positivité. Une série indépendante de qRT-PCR a été réalisée en déposant les 3 dilutions en duplicat en suivant le protocole du Bio-T kit® Tristar Covid-19 décrit page 11 (programme **TRISTAR**). Le coefficient de variation (CV) de répétabilité des valeurs de Ct a ensuite été déterminé en divisant les écarts types par la moyenne selon la formule :

$$CV_{\text{répétabilité}} = \frac{S_r}{M} * 100$$

Où S_r correspond aux écarts types de répétabilité, et M à la moyenne générale des valeurs de la série.

Comme précédemment, la répétabilité a été évaluée lorsque chaque cible est présente avec un ratio équimolaire (1 copie de *gène E* + 1 copies d'**ORF1ab** par exemple).

Données obtenues pour la valence *gène E* du SRAS-CoV-2:

	Répétabilité (Ct)			CV%
				Répétabilité
Positif Fort	22,84	22,81	22,82	0,07
Positif Moyen	29,25	29,52	29,45	0,48
Positif Faible	33,26	33,15	33,06	0,30

⇒ Le coefficient de variation de répétabilité par niveau varie de 0,07 à 0,48% pour la valence *gène E* du SRAS-CoV-2.

Données obtenues pour la valence *ORF1ab* du SRAS-CoV-2:

	Répétabilité (Ct)			CV%
				Répétabilité
Positif Fort	21,10	21,23	21,31	0,50
Positif Moyen	27,83	27,88	28,02	0,35
Positif Faible	31,23	31,75	31,57	0,84

⇒ Le coefficient de variation de répétabilité par niveau varie de 0,35 à 0,84% pour la valence *ORF1ab* SRAS-CoV-2.

Fidélité intermédiaire

La fidélité intermédiaire de la qRT-PCR a été déterminée à partir des ARN transcrits du SRAS-CoV-2 afin d'obtenir trois niveaux de positivité.

Trois séries indépendantes ont été réalisées sur deux thermocycleurs, par deux manipulateurs, en déposant pour chaque série les 3 dilutions en triplicat en suivant le protocole du Bio-T kit® Tristar Covid-19 décrit page 11 (programme TRISTAR). A l'issue de ces trois séries, le coefficient de variation (CV) de fidélité intermédiaires des valeurs de Ct peut être déterminé, sous réserve de positionner la ligne seuil selon des critères communs. La formule de calcul utilisée est :

$$CV_{\text{fidélité intermédiaire}} = \frac{S_r}{M} * 100$$

Où S_r correspond aux écart types de fidélité intermédiaire, et M à la moyenne générale des valeurs des trois séries.

Comme précédemment, la fidélité intermédiaire a été évaluée lorsque chaque cible est présente avec un ratio équimolaire (1 copie de *gène E* + 1 copies d'*ORF1ab* par exemple).

Données obtenues pour la valence *gène E* du SRAS-CoV-2 :

	Fidélité intermédiaire (Ct)			CV%
	Ct série 1	Ct série 2	Ct série 3	Fidélité intermédiaire
Positif Fort	22,84	22,76	23,67	2,18
Positif Moyen	26,12	26,20	27,19	2,25
Positif Faible	29,52	29,33	30,26	1,65

⇒ Le coefficient de variation de fidélité intermédiaire par niveau varie de 1,65 à 2,25% pour la valence *gène E* du SRAS-CoV-2.

Données obtenues pour la valence *ORF1ab* du SRAS-CoV-2 :

	Fidélité intermédiaire (Ct)			CV%
	Ct série 1	Ct série 2	Ct série 3	Fidélité intermédiaire
Positif Fort	21,31	21,34	22,65	3,52
Positif Moyen	28,02	27,95	29,06	2,19
Positif Faible	31,75	31,68	32,55	1,51

⇒ Le coefficient de variation de fidélité intermédiaire par niveau varie de 1,51 à 3,52 % pour la valence **ORF1ab** du SRAS-CoV-2.

Robustesse de la qRT-PCR

La robustesse de la qRT-PCR a été évaluée en analysant le niveau 3 x LD_{RT-PCR}, sur six répliques par série et en faisant varier les paramètres critiques de la qRT-PCR utilisés par rapport aux conditions de référence décrit page 11 (programme TRISTAR):

Variation des paramètres critiques	
Conditions de référence	5 µl d'acide nucléiques 15 µl de Master Mix Hybridation-Elongation des amorces à 60°C et pendant 45 secondes
pour un volume de 15 µl de Master Mix, variation de ± 10% du volume d'ARN	4.5 µl et 5.5 µl
pour un volume de 15 µl de Master Mix, variation de ± 1°C de la température d'hybridation et d'élongation des amorces	59 et 61°C
pour un volume de 15 µl de Master Mix, variation de ± 10% de la durée de l'étape d'hybridation et d'élongation des amorces	40 et 50 secondes

Données brutes des tests de robustesse :

		AriaMx™ (Agilent Technologies)						
		Conditions de référence	15 µl MM 4.5 µl AN	15 µl MM 5.5 µl AN	15 µl MM 59°C	15 µl MM 61°C	15 µl MM 40 sec.	15 µl MM 50 sec.
Valence gène E du SRAS-CoV-2	Réplique 1	33,43	33,63	32,66	34,43	34,10	33,87	33,07
	Réplique 2	32,78	33,37	32,90	33,47	33,40	33,95	34,01
	Réplique 3	33,47	32,71	33,14	33,17	33,82	34,26	33,55
	Réplique 4	33,30	32,76	33,13	33,67	32,99	34,36	33,08
	Réplique 5	32,98	33,74	32,27	33,42	34,70	33,48	33,43
	Réplique 6	32,91	33,84	33,65	32,96	33,43	34,57	33,78
Valence ORF1ab du SRAS-CoV-2	Réplique 1	33,34	34,15	32,45	34,79	34,17	33,39	33,39
	Réplique 2	33,43	35,17	32,08	34,16	33,31	34,36	34,36
	Réplique 3	32,16	35,62	32,38	34,60	34,81	34,03	34,03
	Réplique 4	32,39	34,36	33,22	33,13	32,84	33,46	33,46
	Réplique 5	33,00	34,85	32,81	34,40	34,43	34,29	34,29
	Réplique 6	32,22	34,41	32,80	33,59	34,04	33,01	33,01

Les variations de $\pm 10\%$ du volume d'acides nucléiques et de $\pm 1^\circ\text{C}$ de la température d'hybridation des amorces et de $\pm 10\%$ de la durée de leur élongation, n'ont pas affecté la sensibilité analytique de la qRT-PCR puisque les six répliques de chacune des deux valences du niveau $3 \times \text{LD}_{\text{RT-PCR}}$ ont fourni un signal Détecté dans 100% des cas.

- ⇒ La robustesse du Bio-T kit® TriStar Covid-19 est vérifiée pour les deux valences pour l'utilisation de $15 \mu\text{l}$ de Master-Mix pour des variations du volume d'acide nucléiques, de la durée ou de la température de l'étape d'hybridation des amorces et de leur élongation.

5) Confirmation des performances de la qRT-PCR sur d'autres thermocycleurs

Nous avons confirmé les caractéristiques du Bio-T kit® TriStar Covid-19 sur 3 thermocycleurs :

- AriaMx™ (Agilent Technologies, ramping Fast par défaut)
- ABI PRISM® 7500 Fast (Applied Biosystems) en ramping standard
- QuantStudio™ 5 Real Time PCR system (Applied Biosystems) en ramping standard

Ces trois thermocycleurs ont été choisis car ils représentent deux marques particulièrement présentes dans les laboratoires d'analyses possédant des systèmes dits ouverts. Ils possèdent une répartition différente des blocs peltier ainsi que deux méthodes de lecture de la fluorescence différents (ABI PRISM® 7500 Fast Applied BioSystems, 4 blocs Peltier, caméra CCD avec effet de bord ; AriaMx™ Agilent Technologies et QuantStudio™ 5 Real Time PCR System Applied Technologies, 6 blocs Peltier, lecture par ligne). Le Bio-T kit® Tristar Covid-19 est utilisable sur tout autre thermocycleur possédant *a minima* les canaux de lecture 6-FAM, VIC et Cy5. Dans tous les cas, BioSella recommande au laboratoire utilisateur de vérifier les performances du test sur vos appareils en vérifiant la détectabilité d'un niveau équivalent à $3 \times \text{LD}_{\text{RT-PCR}}$ afin de qualifier votre thermocycleur temps-réel non seulement sur la partie thermique (couverture de l'ensemble des blocs Peltier qui fonctionnent indépendamment), mais également sur la partie optique. Se référer au manuel de vérification des performances du Bio-T kit® Tristar Covid-19 pour plus d'informations.

Pour ce test, le programme utilisé est celui décrit page 11: programme spécial TRISTAR.

Pour cela, les ARN de chaque cible du SARS-CoV-2 ont été dilués afin d'atteindre une quantité correspondant à $3 \times \text{LD}_{\text{RT-PCR}}$ par réaction, soit $3 \times \text{LD}_{\text{RT-PCR}}$ dans $5 \mu\text{l}$. Cette quantité est déposée, après dépôt préalable de $15 \mu\text{l}$ de Master Mix, au minimum en 3 répliques et au moins une réplique par bloc Peltier. Les puits utilisés pour ces confirmations de performances sont ceux correspondants aux positions du bloc thermique vérifiées lors du raccordement métrologique des températures. Comme précédemment, chaque cible est présente avec un ratio équimolaire (1 copie de *gène E* + 1 copies d'*ORF1ab* par exemple).

Critères de performances requis pour l'adoption de la qRT-PCR

Etape	Plan d'expérience			Résultat attendu
	Nombre de niveaux de dilutions*	Nombre de répliques	Nombre de série/ thermocycleur	
Limite de détection $\text{LD}_{\text{RT-PCR}}$	1 = $3 \times \text{LD}_{\text{RT-PCR}}$ soit 60 copies/RT-PCR pour la cible <i>gène E</i>	4 pour l'ABI PRISM® 7500 Fast	1	3
	1 = $3 \times \text{LD}_{\text{RT-PCR}}$ soit 15 copies/RT-PCR pour la cible <i>ORF1ab</i>	6 pour l'AriaMx™ 6 pour le QuantStudio™ 5		

Données obtenues : Fréquence de détection

Critère mesuré	Cible	Nombre de copies / RT-PCR*	QuantStudio 5 en ramping Standard		AriaMx™ (ramping Fast par défaut)		ABI PRISM® 7500 Fast en ramping Standard	
			Nombre de répliques détectées	Fréquence de détection	Nombre de répliques détectées	Fréquence de détection	Nombre de répliques détectées	Fréquence de détection
Limite de détection	Gène E du SARS-CoV-2	60	6	100%	6	100%	4	100%
3 x LD _{RT-PCR}	ORF1ab du SARS-CoV-2	15	6	100%	6	100%	4	100%

*L'autre cible est également présente en ratio équimolaire (par exemple 15 copies de gène E + 15 copies de l'ORF1ab)

- ⇒ Les valeurs de 3 x LD_{RT-PCR} (= 60 copies/RT-PCR pour la cible *gène E* et 15 copies/RT-PCR pour la cible *ORF1ab*) sont confirmées pour chaque thermocycleur pour le programme TRISTAR.
- ⇒ L'utilisation du programme d'amplification TRISTAR a été validée sur les thermocycleurs ABI PRISM® 7500 Fast en ramping standard, AriaMx™, QuantStudio™ 5 Real Time PCR System.

Caractérisation de méthode complète pour la matrice de type écouvillon naso-pharyngé profond ou oral

Associé au programme d'amplification TRISTAR

1) Limite de détection de la méthode complète

La limite de détection méthode associant l'extraction BioExtract® Premium Mag et le Bio-T kit® Tristar Covid-19 a été déterminée sur des dilutions en série d'un virus entier inactivé de SRAS-CoV-2 titré à 10^4 dC/ml (digital copies/ml, SCV2QC01-QC, Randox, UK) dans des écouvillons nasopharyngés cliniques négatifs. L'approche de la LD_{METHODE} a été effectuée sur 3 concentrations avec 5 réplicats par concentration. La concentration la plus faible avec un taux de détection de 100 % a été sélectionnée pour confirmer la LD_{METHODE} sur 20 réplicats. Les extractions ont été effectuées à l'aide du BioExtract® Premium Mag et les amplifications à l'aide du Bio-T kit® Tristar Covid-19 (détail page 11, programme TRISTAR) sur AriaMx™.

Résultat de l'approche de la LD_{METHODE}

Plan d'expérience :

Nombre de dilutions	Nombre de réplicques par série	Nombre de séries indépendantes
3	5	1

Données brutes (valeurs de Ct) de l'approche de la LD_{METHODE} :

Niveau de positivité	réplique	BioExtract® Premium Mag		
		Ct gène E	Ct ORF1ab	Ct IPC
10 ³ dC/ml	1	31,55	31,10	25,03
	2	31,14	31,47	24,70
	3	31,34	31,74	25,00
	4	31,33	32,15	24,82
	5	31,30	31,57	25,11
10 ² dC/ml	1	34,47	33,91	25,21
	2	35,31	35,23	24,82
	3	38,69	35,56	24,98
	4	34,47	37,92	25,08
	5	35,33	39,26	24,94
10 ¹ dC/ml	1	35,49	ND	25,01
	2	ND	ND	25,06
	3	ND	ND	24,85
	4	ND	ND	24,92
	5	ND	ND	25,15

⇒ La LD_{METHODE} approchée serait de 10² dC/ml pour le Bio-T kit® Tristar Covid-19 pour la matrice ENP associée au programme d'amplification TRISTAR. Cependant, au vue des valeurs de Ct obtenues, il est décidé de retenir le niveau 10³ dC/ml pour faire la vérification de la LD_{METHODE}.

Résultat de La confirmation de la LD_{METHODE}

Plan d'expérience :

Nombre de dilution	Nombre de répliques par série	Nombre d'opérateur	Nombre de séries indépendantes
1	20	1	1

Données brutes (valeurs de Ct) de la confirmation de la vérification de la LD_{METHODE} :

LD _{METHODE} 10 ³ dC/ml	BioExtract® Premium Mag		
	Ct gène E	Ct DRF _{lab}	Ct IPC
ENP	33,58	33,36	28,29
	32,85	33,28	27,97
	32,92	31,89	27,76
	33,58	34,39	27,99
	33,02	32,59	27,71
	32,60	32,92	27,66
	32,72	33,00	28,36
	33,00	34,21	27,78
	33,17	32,52	27,97
	33,56	33,70	28,03
	32,78	33,74	28,03
	32,25	33,07	27,99
	32,82	32,86	28,21
	33,24	32,90	28,09
	33,17	36,41	28,02
	33,75	33,06	28,31
	32,78	32,99	28,06
	33,62	35,86	27,91
	33,43	34,00	28,35
	32,95	33,78	28,38
32,81	34,30	28,43	

⇒ Ainsi, la LD_{METHODE} pour le Bio-T kit® Tristar Covid-19 pour la matrice ENP associée au programme d'amplification TRISTAR est de 10³ dC/ml.

2) Répétabilité et fidélité intermédiaire de la méthode complète

Répétabilité de la méthode

La vérification de la répétabilité pour la méthode d'extraction BioExtract® Premium Mag a été réalisée sur 2 échantillons positifs d'écouvillon naso-pharyngé profond obtenus à partir de 2 patients présentant des symptômes du Covid-19. Ces échantillons ont été prélevés par un personnel qualifié conformément à la notice d'utilisation du dispositif de prélèvement et manipulés conformément à la notice d'utilisation du dispositif de prélèvement, puis conservés à ≤ -16°C jusqu'à leur utilisation. Ces échantillons ont été extraits en une série indépendante d'extraction, en réalisant 3 répliques d'extraction par série puis chaque réplique a été analysée par qRT-PCR sur AriaMx™ selon les protocoles détaillés dans le manuel d'extraction du Bio-T kit® Tristar Covid-19 et page 11 (programme TRISTAR).

Le Coefficient de variation de répétabilité des valeurs de Ct a ensuite été évalué. Le coefficient de variation (CV) de répétabilité des valeurs de Ct a ensuite été déterminé en divisant les écarts types par la moyenne selon la formule :

$$CV_{\text{répétabilité}} = \frac{Sr}{M} * 100$$

Où Sr correspond aux écarts types de répétabilité, et M à la moyenne générale des valeurs de la série.

Plan d'expérience :

Nombre de série d'extraction	Nombre de répliques par série d'extraction	Nombre de qRT-PCR par série d'extraction
1	3	1

Données obtenues :

Valence	Niveau de positivité	Répétabilité (Ct)			Répétabilité	
		Réplique 1	Réplique 2	Réplique 3	Moyenne (Ct)	CV%
gène E du SRAS-CoV-2	Positif Fort	22,22	22,26	22,28	22,25	0,14
	Positif Moyen	25,52	25,21	25,42	25,38	0,62
	Positif faible	31,95	31,73	31,95	31,88	0,40
ORF1ab du SRAS-CoV-2	Positif Fort	22,28	22,22	22,37	22,29	0,34
	Positif Moyen	25,30	25,37	25,50	25,39	0,40
	Positif faible	31,96	31,64	31,82	31,81	0,50
IPC exogène	Niveau de positivité moyen	26,63	26,56	26,62	26,60	0,14

⇒ Pour la méthode d'extraction BioExtract® Premium Mag, le coefficient de variation de répétabilité varie entre 0,14 et 0,62 % pour la valence gène E SRAS-CoV-2, entre 0,34 et 0,50 % pour la valence **ORF1ab** du SRAS-CoV-2 et est de entre 0,14% pour la valence IPC.

Fidélité intermédiaire de la méthode

La vérification de la fidélité intermédiaire a été réalisée à partir des 3 échantillons positifs décrit dans le paragraphe ci-dessus. Ces échantillons ont été extraits en 2 séries indépendante d'extraction, en réalisant 3 répliques par série puis chaque réplique a été analysée par qRT-PCR sur AriaMx™ selon les protocoles détaillés dans le manuel d'extraction du Bio-T kit® Tristar Covid-19 et page 11 (programme TRISTAR). Le Coefficient de variation de fidélité intermédiaire des valeurs de Ct a ensuite été évalué en prenant soin de positionner la ligne seuil selon des critères communs. La formule de calcul utilisée est : en divisant les écarts par la moyenne selon la formule :

$$CV_{\text{fidélité intermédiaire}} = \frac{S_r}{M} * 100$$

Où Sr correspond aux écarts de fidélité intermédiaire, et M à la moyenne générale des valeurs des trois séries.

Plan d'expérience :

Nombre de série d'extraction	Nombre de répliques par série	Nombre de qRT-PCR par série d'extraction
2	3	1

Données obtenues :

Valence	Niveau de positivité	Fidélité intermédiaire (Ct)				Fidélité intermédiaire (Ct)
		Réplique 1	Réplique 2	Réplique 3	Moyenne	CV%
gène E du SRAS-CoV-2	Positif Fort	22,22	22,47	22,67	22,45	1,00
	Positif Moyen	25,52	25,42	25,88	25,61	0,94
	Positif faible	31,95	33,77	33,90	33,21	3,28
ORF1ab du SRAS-CoV-2	Positif Fort	22,28	22,37	22,68	22,44	0,93
	Positif Moyen	25,50	25,97	26,11	25,86	1,24
	Positif faible	31,96	31,64	34,02	32,54	3,97
IPC exogène	Positif Fort	26,63	26,62	27,16	26,80	1,15

- ⇒ Pour la méthode d'extraction BioExtract® Premium Mag, le coefficient de variation de fidélité intermédiaire varie entre 0,94 et 3,28 % pour la valence gène E du SRAS-CoV-2, entre 0,93 et 3,97 % pour la valence ORF1ab SRAS-CoV-2 et est de 1,15 % pour la valence IPC.

3) Spécificité et Sensibilité diagnostiques sur échantillons de statut connu

a. Premier panel de sensibilité et spécificité diagnostiques

La spécificité et la sensibilité diagnostiques de la méthode complète associant le BioExtract® Premium Mag au Bio-T kit® Tristar-Covid-19 a été analysées à l'aide de données transmises par un laboratoire partenaire réalisant des tests de détection du SRAS-CoV-2 avec notre méthode (extraction décrite dans le manuel d'extraction du Bio-T kit® Tristar Covid-19 et RT-PCR en temps réel décrit page 11 programme TRISTAR).

20 échantillons provenant de patients préalablement statués pour le SRAS-CoV-2 avec une technique de référence (technique interne confidentielle utilisant la détection de l'ORF1ab et du gène N du SRAS-CoV-2) ont ainsi été analysés par notre laboratoire partenaire, parmi eux, 13 sont attendus positifs et 7 sont attendus négatifs.

Les résultats sont analysés et exprimés :

Pour la spécificité diagnostique (Sp) : en pourcentage de négatifs trouvés parmi les négatifs attendus.

Pour la sensibilité diagnostique (Se) : en pourcentage de positifs trouvés parmi les positifs attendus.

Données obtenues

		Statut connu	
		+	-
Résultats Bio-T kit® TriStar Covid-19	+	13	2
	-	0	5
	Total	13	7

- ⇒ Sur les panels d'échantillons analysés, pour la méthode BioExtract® Premium Mag, la spécificité diagnostique est Sp = 75 %.

- ⇒ La sensibilité diagnostique est Se = 100%

b. Second panel de sensibilité et spécificité diagnostiques

Afin de compléter les données de spécificité et sensibilité diagnostiques de la méthode complète associant le BioExtract® Premium Mag au Bio-T kit® Tristar-Covid-19, un panel de 200 échantillons positifs et 200 échantillons négatifs, préalablement statué pour le SRAS-CoV-2 avec une technique de référence (technique GSD NovaPrime utilisant la détection de l'*ORF1ab* et du gène N du SRAS-CoV-2), a été analysé avec notre méthode (extraction décrite dans le manuel d'extraction du Bio-T kit® Tristar Covid-19 et RT-PCR en temps réel décrit page 11 programme TRISTAR).

Les résultats sont analysés et exprimés :

Pour la spécificité diagnostique (Sp) : en pourcentage de négatifs trouvés parmi les négatifs attendus.

Pour la sensibilité diagnostique (Se) : en pourcentage de positifs trouvés parmi les positifs attendus.

L'ensemble des résultats est disponibles dans le dossier de validation du Bio-T kit® TriStar Covid-19.

Données obtenues

		Statut connu	
		+	-
Résultats Bio-T kit® TriStar Covid-19	+	196	0
	-	4	198
	Total	200	198

⇒ Sur les panels d'échantillons analysés, pour la méthode BioExtract® Premium Mag, la spécificité diagnostique est Sp = 100 %.

⇒ La sensibilité diagnostique est Se = 98%

Caractérisation de méthode complète pour la matrice de type écouvillon naso-pharyngé profond ou oral

Associé au programme d'amplification TRISTAR FAST

1) Limite de détection de la méthode complète

La limite de détection méthode associant l'extraction BioExtract® Premium Mag et le Bio-T kit® Tristar Covid-19 a été déterminée sur des dilutions en série d'une virus entier inactivé de SRAS-CoV-2 titré à 10^4 dC/ml (digital copies/ml, SCV2QC01-QC, Randox, UK) dans des écouvillons nasopharyngés cliniques négatifs. L'approche de la $LD_{METHODE}$ a été effectuée sur 3 concentrations avec 5 répliquats par concentration, La concentration la plus faible avec un taux de détection de 100 % a été sélectionnée pour confirmer la $LD_{METHODE}$ sur 20 répliquats. Les extractions ont été effectuées à l'aide du BioExtract® Premium Mag et les amplifications à l'aide du Bio-T kit® Tristar Covid-19 (détail page 11, programme TRISTAR FAST) sur AriaMx™.

Résultat de l'approche de la $LD_{METHODE}$

Plan d'expérience :

Nombre de dilutions	Nombre de répliquats par série	Nombre de séries indépendantes
3	5	1

Données brutes (valeurs de Ct) de l'approche de la $LD_{METHODE}$:

Niveau de positivité	BioExtract® Premium Mag			
	réplique	Ct gène E	Ct ORF1ab	Ct IPC
10 ³ dC/ml	1	31,48	31,13	26,43
	2	31,95	31,76	27,77
	3	31,85	31,37	26,82
	4	31,40	32,02	26,34
	5	31,39	30,90	27,39
10 ² dC/ml	1	35,33	ND	26,93
	2	38,84	ND	27,35
	3	35,33	ND	26,78
	4	35,46	ND	28,37
	5	37,74	ND	26,51
10 ¹ dC/ml	1	ND	ND	25,54
	2	37,10	ND	25,40
	3	ND	ND	27,19
	4	ND	ND	27,34
	5	ND	ND	26,20

ND : Non détecté – absence de signal

⇒ La $LD_{METHODE}$ approchée serait de 10³ dC/ml pour le Bio-T kit® Tristar Covid-19 pour la matrice ENP associée au programme d'amplification TRISTAR FAST.

Résultat de La confirmation de la LD_{METHODE}

Plan d'expérience :

Nombre de dilution	Nombre de répliques par série	Nombre d'opérateur	Nombre de séries indépendantes
1	20	1	1

Données brutes (valeurs de Ct) de la confirmation de la vérification de la LD_{METHODE} :

LD _{METHODE} 10 ³ dC/ml	BioExtract® Premium Mag		
	Ct <i>gène E</i>	Ct <i>ORF1ab</i>	Ct IPC
ENP	32,88	32,54	28,49
	33,34	34,06	28,37
	33,11	32,07	28,27
	33,40	34,11	28,54
	32,50	32,87	28,41
	33,06	32,97	28,02
	33,80	31,91	28,61
	33,70	32,15	28,53
	33,02	33,26	28,11
	33,57	32,87	28,58
	33,03	33,82	28,13
	33,05	33,18	28,67
	34,53	34,07	28,46
	33,46	33,21	28,39
	33,16	33,34	28,62
	33,82	33,09	28,55
	33,17	33,99	28,36
	34,24	32,72	28,48
	33,47	33,69	28,63
	33,97	35,14	28,68
33,89	32,48	28,37	

⇒ Ainsi, la LD_{METHODE} pour le Bio-T kit® Tristar Covid-19 en programme TRISTAR FAST est de 10³ dC/ml pour la matrice ENP.

2) Spécificité et Sensibilité diagnostiques sur échantillons de statut connu

La spécificité et sensibilité diagnostiques de la méthode complète associant le BioExtract® Premium Mag au Bio-T kit® Tristar-Covid-19 en programme d'amplification TRISTAR FAST a été analysées d'une part à l'aide un panel de 200 échantillons positifs et 200 échantillons négatifs, préalablement statués pour le SRAS-CoV-2 avec une technique de référence (technique GSD NovaPrime utilisant la détection de l'*ORF1ab* et du gène N du SRAS-CoV-2) et d'autre part à l'aide de données transmises par un laboratoire partenaire réalisant des tests de détection du SRAS-CoV-2 avec notre méthode (extraction décrite dans le manuel d'extraction du Bio-T kit® Tristar Covid-19 et RT-PCR en temps réel décrit page 11 programme TRISTAR FAST). Les acides nucléiques extraits de ce panel de 1227 échantillons ont ainsi été analysés en programme TRISTAR (méthode de référence) et en programme TRISTAR FAST.

Les résultats sont analysés et exprimés :

Pour la spécificité diagnostique (S_p) : en pourcentage de négatifs trouvés parmi les négatifs attendus.

Pour la sensibilité diagnostique (S_e) : en pourcentage de positifs trouvés parmi les positifs attendus.

Données obtenues

		Statut connu		Total
		BioExtract® Premium Mag + Bio-T kit® Tristar-Covid-19 en programme d'amplification TRISTAR		
		+	-	
Résultats BioExtract® Premium Mag + Bio-T kit® Tristar-Covid-19 en programme d'amplification TRISTAR FAST	+	305	1	306
	-	22	897	919
Total		327	898	1225

- ⇒ Sur les panels d'échantillons analysés, pour la méthode BioExtract® Premium Mag, la spécificité diagnostique est $S_p = 99.8\%$.
- ⇒ La sensibilité diagnostique est $S_e = 93.3\%$

Caractérisation de méthode complète pour la matrice de type Salive

1) Limite de détection de la méthode complète

L'approche de la limite de détection de la méthode a été réalisée, en accord avec l'avis de la SFM du 29 septembre 2020 (Version 2_21/02/2021), à partir d'un surnageant de culture cellulaire inactivé fourni par le CNR des virus des infections respiratoires (dont la grippe) de Lyon. Les données ont été obtenus par notre laboratoire partenaire, Medilys (Lons-le-Saunier) en utilisant la plateforme MGIEasy Nucleic Acid extraction kit (MGI Tech) associé au Bio-T kit® Tristar-Covid-19 selon le protocole décrit page 11. Ainsi, des dilutions successives au 1/10^{ème} d'un échantillon de salive dopé avec le surnageant viral inactivé ont été réalisées. Des triplicats d'extraction ont ensuite été réalisés pour estimer la limite de détection. Deux salives négatives différentes ont été utilisées. Afin d'évaluer l'effet de la matrice salive, les mêmes niveaux de dilutions ont été réalisés en extrayant le surnageant viral non complémenté avec de la matrice.

Afin d'évaluer le titre du surnageant viral, une quantification de ce dernier à été réalisée par RT-PCR quantitative en temps réel et comparé avec le virus entier inactivé de SRAS-CoV-2 titré à 10⁴ dC/ml (digital copies/ml, SCV2QC01-QC, Randox, UK) utilisé pour la détermination des LD_{METHODE}. Les données de cette quantification sont données à titre indicatif dans le tableau ci-dessous.

Résultat de l'approche de la LD_{METHODE}

Plan d'expérience :

Nombre de dilutions	Nombre de répliques par série	Nombre de séries indépendantes
3	3	2

Données brutes (valeurs de Ct) de la LD_{METHODE} :

Niveau de dilution du surnageant viral (CNR Lyon)	Niveau de positivité Correspondant	réplique	Surnageant viral			Salive N°1			Salive N°2		
			Ct <i>gène E</i>	Ct <i>ORF1ab</i>	Ct <i>IPC</i>	Ct <i>gène E</i>	Ct <i>ORF1ab</i>	Ct <i>IPC</i>	Ct <i>gène E</i>	Ct <i>ORF1ab</i>	Ct <i>IPC</i>
10⁻⁴	10⁴ dC/ml	1	27.8	27.5	25.2	27.7	27.5	25.5	26.6	26.8	27.1
		2	27.4	27.7	27.5	28.0	27.5	25.6	26.7	26.7	27.1
		3	28.8	28.5	25.6	27.4	27.6	25.6	26.6	26.6	27.4
10⁻⁵	10³ dC/ml	1	30.7	30.4	24.2	32.1	31.5	25.6	29.2	29.7	26.9
		2	31.2	30.5	25.0	31.6	31.1	24.9	30.8	30.1	27.7
		3	30.8	30.1	25.4	31.3	31.4	26.1	30.9	30.7	27.9
10⁻⁶	10² dC/ml	1	36.6	34.1	25.3	ND	ND	24.9	ND	ND	27.3
		2	34.8	33.9	25.0	ND	ND	24.1	ND	35.5	27.6
		3	36.1	36.1	25.2	ND	ND	24.1	ND	36.2	28.2

⇒ Ainsi, la LD_{METHODE} pour le Bio-T kit® Tristar Covid-19 pour la matrice salive est équivalente à la dilution à 10⁻⁵ du surnageant de virus inactivé (matériau du CNR), et correspond à 10³ dC/ml.

2) Spécificité et Sensibilité diagnostiques sur échantillons de statut connu

La spécificité et sensibilité diagnostiques de la méthode complète pour la matrice salive a été obtenue par comparaison aux prélèvements par écouvillonnage nasopharyngé.

BioSella remercie les laboratoires Inovalys (Tour), Laborizon Centre (Chambray-lès-Tours), LBM NOVELAB Claude Bernard (Villefranche-sur-Saône) et Medilys (Lons-le-Saunier) pour leur important travail d'échantillonnage de couples d'ENP/Salive ainsi que d'analyses RT-PCR, permettant de répondre aux exigences applicables de la directive 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* et du Code de la Santé Publique Français.

Ainsi, la spécificité et sensibilité diagnostiques de la méthode a été analysée à l'aide de données transmises par nos laboratoires partenaires réalisant des tests de détection du SRAS-CoV-2 sur les couples ENP/Salive avec le Bio-T kit® Tristar Covid-19. Le panel est constitué de 61 couples ENP/Salive positifs et 71 couples ENP/Salive négatifs. Les méthodes de prélèvements utilisés par nos laboratoires partenaires répondent aux recommandations de la SFM (avis du 29/09/2020). Les méthodes d'extraction utilisées sont le BioExtract Premium Mag (selon le protocole décrit dans le manuel d'extraction du Bio-T Kit® TriStar Covid-19) et MGIEasy Nucleic Acid extraction kit (MGI Tech). Les résultats pour chacune des méthodes d'extraction étant identiques, les résultats ont été compilés.

Les résultats sont analysés et exprimés :

Pour la spécificité diagnostique (S_p) : en pourcentage de négatifs trouvés parmi les négatifs attendus.

Pour la sensibilité diagnostique (S_e) : en pourcentage de positifs trouvés parmi les positifs attendus.

Données obtenues

		Résultats Bio-T kit® TriStar Covid-19 sur Ecouvillons Naso-Pharyngé	
		+	-
Résultats Bio-T kit® TriStar Covid-19 sur matrice salive	+	57	1
	-	4	70
	Total	61	71

⇒ Sur les panels d'échantillons analysés, la spécificité diagnostique est $S_p = 98.6\%$

⇒ La sensibilité diagnostique est $S_e = 93.4\%$



27 chemin des Peupliers

69570 Dardilly, France

www.biosellal.com

Support Technique

tech@biosellal.com

+33 (0) 4 26 78 47 62

Renseignements et commandes

contact@biosellal.com

+33 (0) 4 26 78 47 60