LumiraDx™
Fast Lab Solutions

Dual-Target SARS-CoV-2
STAR Complete

Mode d'emploi

REF L018180801096

IVD CE

SD-COM-ART-00308 R3 Rev Date 2023/04

Table des matières

1. Usage prévu 4
2. Résumé et explication du test 4
3. Principes de la procédure 4
4. Réactifs et matériel 5
4.1. Matériel requis (fourni) 5
4.2. Matériel requis (mais non fourni) 5
4.3. Stockage, manipulation et stabilité des réactifs 6
5. Prélèvement, manipulation, stockage et transport des échantillons 6
5.1. Prélèvement et manipulation des échantillons 7
5.2. Stockage des échantillons 7
5.3. Transport d'échantillons 7
6. Avertissements et précautions 7
7. Instrument de PCR en temps réel et synthèse du protocole 8
8. Flux de travail du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete 11
8.1. Contrôle qualité 11
8.1.1. Contrôles internes 11
8.1.2. Témoins positifs et négatifs 11
8.2. Préparation des échantillons 11
8.2.1. Écouvillon sec (format standard) 12
8.2.2. Écouvillon sec (format de puits profond) 12
8.2.3. Écouvillon humide 12
8.3. Préparation du réactif qSTAR et configuration de la plaque 12
8.3.1. Format à 96 puits (volume de réaction de 60 µl) 12
8.4. Amplification 14
8.5. Interprétation et rapport des résultats 14
8.5.1. LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Controls 14
8.5.2. Résultats de l'échantillon pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete 14
9. Limites 15
10. Caractéristiques des performances 16
10.1. Études analytiques 16
10.1.1. Sensibilité analytique : (Matrice d'échantillons ensemencés) 16
10.1.2. Sensibilité analytique : LoD (écouvillon ensemencé) 16
10.1.3. Sensibilité analytique : LoD (écouvillon sec) 16

10.1.4. Inclusivité 16
10.1.5. Inclusivité (in silico) 17
10.1.6. Spécificité analytique : Exclusivité et réactivité croisée 17
10.1.7. Exclusivité (in silico) 19
10.1.8. Substance potentiellement interférente 19
10.1.9. Répétabilité 20
10.1.10. Reproductibilité 20
10.2. Étude clinique 20
10.3. Études d'équivalence 21
10.3.1. Équivalence du milieu de transport 21
10.3.2. Équivalence des instruments (96 puits) 21
11. Coordonnées de contact, commandes et assistance produit 21
12. Glossaire des symboles 22
13. Annexe A : Instructions détaillées pour la configuration d'instrument (format à 96 puits) 23
13a. Configuration d'instrument pour l'instrument Applied Biosystems^{MC} QuantStudio 5 (format à 96 puits) 23
13a.1 Instructions de programmation pour un instrument relié à un PC/ordinateur portable 23
13a.2 Consignes d'analyse 24
13b. Configuration d'instrument pour l'instrument Applied Biosystems QuantStudio 7 Flex (format à 96 puits) 25
13b.1 Instructions de programmation pour un instrument connecté à un PC/ordinateur portable 26
13b.2 Consignes d'analyse 27
13c. Configuration d'instrument pour l'instrument Bio-Rad CFX OPUS (format à 96 puits) 29
13c.1 Instructions de programmation pour un instrument connecté à un PC/ordinateur portable 29
13c.2 Consignes d'analyse 30
13d. Configuration d'instrument pour l'instrument Analytic Jena qTOWER^3 (format à 96 puits) 31
13d.1 Instructions de programmation pour un instrument connecté à un PC/ordinateur portable 31
13d.2 Consignes d'analyse 33

1. Usage prévu

Le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete est un test d'amplification d'acides nucléiques (TAAN) rapide et non isothermique utilisant la technologie qSTAR (quantitative Selective Temperature Amplification Reaction) pour la détection et la différenciation de l'acide nucléique de deux gènes (nsp1 & orf8) distincts du génome du SARS-CoV-2 dans des échantillons d'écouvillonnage naso-pharyngé ou nasal antérieur prélevés à sec ou dans un milieu de transport chez des personnes soupçonnées d'être atteintes de la COVID-19.

Les résultats sont destinés à l'identification de l'acide nucléique du SARS-CoV-2. L'acide nucléique du SARS-CoV-2 est généralement détectable dans les échantillons des voies respiratoires supérieures pendant la phase aiguë de l'infection. Des résultats positifs indiquent la présence de l'acide nucléique du SARS-CoV-2 ; une corrélation clinique avec les antécédents du patient et d'autres informations diagnostiques est nécessaire pour déterminer le statut infectieux du patient. Des résultats positifs n'excluent pas une infection bactérienne ou une co-infection avec d'autres virus. L'agent détecté peut ne pas être la cause définitive de la maladie. Les résultats négatifs n'excluent pas une infection par le SARS-CoV-2 et ne doivent pas être utilisés comme seule base pour les décisions de prise en charge des patients. Les résultats négatifs doivent être associés aux observations cliniques, aux antécédents du patient et aux informations épidémiologiques.

Le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete est destiné à être utilisé par du personnel de laboratoire clinique qualifié spécifiquement instruit et formé aux techniques de PCR en temps réel et aux procédures de diagnostic in vitro.

Les laboratoires peuvent être tenus de signaler tous les résultats positifs aux autorités sanitaires compétentes appropriées.

2. Résumé et explication du test

Les infections des voies respiratoires causées par des virus respiratoires représentent une cause fréquente de maladie aiguë dans le monde. Un diagnostic rapide et précis de la cause des infections des voies respiratoires est important car la gravité de la maladie peut être accrue chez les personnes jeunes, immunodéprimées ou âgées[1].

SARS-CoV-2

L'Organisation mondiale de la santé (OMS) a donné à la maladie causée par le virus SARS-CoV-2 le nom de maladie à coronavirus 2019 ou COVID-19[2]. Les symptômes courants de la COVID-19 sont la fièvre, la fatigue et la toux sèche. Certains patients peuvent être atteints de maux et de douleurs, d'une congestion nasale, d'un écoulement nasal, de maux de gorge ou de diarrhée. Ces symptômes sont généralement légers et commencent progressivement. Certaines personnes sont infectées mais ne développent pas de symptômes et ne se sentent pas mal (infection asymptomatique). Cependant, la maladie peut se développer rapidement et présenter une morbidité élevée chez certaines populations, en particulier celles qui souffrent de problèmes de santé sous-jacents. La maladie peut se propager d'une personne à l'autre par de petites gouttelettes provenant du nez ou de la bouche qui se diffusent lorsqu'une personne atteinte de COVID-19 tousse ou expire. Selon la plupart des estimations, la période d'incubation de la COVID-19 varie entre 2 et 14 jours[3].

3. Principes de la procédure

Le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete est un test d'amplification d'acides nucléiques (TAAN) rapide et non isothermique utilisant la technologie qSTAR (quantitative Selective Temperature Amplification Reaction), qui détecte et différencie l'acide nucléique de deux gènes (nsp1 & orf8) distincts du SARS-CoV-2 à partir d'écouvillons secs ou d'écouvillons dans un milieu de transport directement à partir d'échantillons d'écouvillonnage nasal antérieur ou naso-pharyngé prélevés à sec ou dans un milieu de transport dans les vingt-cinq minutes, sans qu'il soit nécessaire de procéder à une purification ou à une extraction préalable de l'échantillon.

Le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Internal Control, Primer et Probe (IC/P) Mix est conçu pour la détection qualitative de l'acide nucléique de deux gènes (nsp1 & orf8) distincts du SARS-CoV-2 dans des écouvillons naso-pharyngés prélevés chez des individus soupçonnés d'être atteints de la COVID-19 par leur fournisseur de soins de santé.

Les virions cibles sont lysés et amplifiés à partir d'échantillons respiratoires en une seule réaction. La lyse est réalisée à l'aide de détergents présents dans le Extraction Buffer LumiraDx. Les acides nucléiques présents après la lyse sont rétrotranscrits puis amplifiés par qSTAR à l'aide d'amorces spécifiques pour chaque cible de test. L'amplification qSTAR est obtenue par cyclage entre deux températures et par l'utilisation de deux enzymes distinctes, une polymérase et une enzyme de coupure. La polymérase est relativement favorisée à température plus élevée tandis que l'enzyme de coupure est relativement favorisée à température plus basse. Des balises moléculaires sont utilisées pour recouvrir et détecter spécifiquement chaque amplicon cible à l'aide instruments de RT-PCR ouverts : 96-puits : Applied Biosystems QuantStudio 5 (version logicielle 1.5.1), Applied Biosystems QuantStudio 7 Flex (version logicielle 1.3), Analytik Jena qTOWER[3] (version logicielle 4.1) ou le système Bio-Rad CFX Opus (version logicielle 2.2).

---

1 Couch, R.B. et Kasel, J.A. 1995. Influenza in Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial, and Chlamydial Infections [Influenza dans les procédures de diagnostic des infections virales, à rickettsies et à chlamydia]. 7e édition. 431-446.

2 Organisation mondiale de la santé : .www.who.int

3 Centre de contrôle et de prévention des maladies : www.cdc.org.

4. Réactifs et matériel

Matériel requis (fourni)

Tableau 1. Composants et volumes du kit Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete -

Composant	Volume de 96 puits (L018180801096)
Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Positive Control Media (PCM)	250 µl
Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Negative Control Media (NCM)	1,5 ml
Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Salt Mix	1,0 ml
Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Extraction Buffer	500 µl
Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Internal Control & Primer Mix (IC/P Mix)	200 µl
Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Master Mix	2,0 ml

Matériel requis (mais non fourni)

Tableau 2. Consommables requis (non fournis)

Consommables	Source	Numéro catalogue
Équipement de protection individuelle approprié	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Embouts de pipette anti-aérosols avec filtres	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Tubes de microcentrifugation (sans DNase/RNase), 0,6 à 5 ml	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Gant en nitrile non poudré	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Plaques à 96 puits profonds (fond en U)	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Réservoirs de réactifs (pour un volume mort minimal)	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Sac ou conteneur à déchets refermable	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Lingettes de laboratoire à faible peluchage	Fournisseur général de laboratoire	s.o.

Tableau 3. Réactifs requis (non fournis)

Réactifs	Source	Numéro catalogue
Solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel)	ThermoFisher Scientific	SS290-1
Isopropanol à 70 % (ou éthanol à 70 %)	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
DNAZap^{MC} (ou équivalent)	ThermoFisher Scientific	AM9890
RNaseZap^{MC} (ou équivalent)	ThermoFisher Scientific	AM9782
Écouvillons et milieu de transport compatibles	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Solution saline, 0,85 ou 0,90 %	Hardy Diagnostics	U157 ou U264
1x solution saline tamponnée au phosphate (PBS), pH 7,4	ThermoFisher Scientific	10010023
Milieu de transport	Milieu de transport Corning*	25-500-CM

*Ou milieu de formulation similaire

Tableau 4. Instruments et consommables 96 puits (non fournis)

Instruments et consommables pour PCR à 96 puits	Source	Numéro catalogue
Applied Biosystems QuantStudio™ 5, bloc de 96 puits (version logicielle 1.5.1)	ThermoFisher Scientific	A28574
Plaque optique à 96 puits MicroAmp d'Applied Biosystems	ThermoFisher Scientific	4306737
Film polypropylène résistant à la chaleur pour plaques à rebord surélevé	VWR	89087-690
Bloc à 96 puits pour Applied Biosystems QuantStudio 7 Flex (version logicielle 1.3)	ThermoFisher Scientific	4485698
Plaque optique à 96 puits MicroAmp d'Applied Biosystems	ThermoFisher Scientific	4306737
Film polypropylène résistant à la chaleur pour plaques à rebord surélevé	VWR	89087-690
Instrument de PCR en temps réel Bio-Rad CFX Opus 96 (version logicielle 2.2)	Bio-Rad	12011319
Plaque de PCR en temps réel Eppendorf twin.tec 96 puits à jupe	Eppendorf	951022003
Film polypropylène résistant à la chaleur pour plaques à rebord surélevé	VWR	89087-690
qTOWER³ ou qTOWER³ G (version logicielle 4.1)	Analytik Jena	844-00553-4 ou 844-00554-4
Plaque de PCR en temps réel Eppendorf twin.tec à 96 puits à demi-jupe	Eppendorf	951022043
Film polypropylène résistant à la chaleur pour plaques à rebord surélevé	VWR	89087-690

Tableau 5. Consommables universels* (non fournis)

Consommables universels	Source	Numéro catalogue
Film d'étanchéité ThermalSeal A	Produit de Recherche International	202545
Film polypropylène résistant à la chaleur pour plaques à rebord surélevé	VWR	89087-690
Film d'étanchéité utilitaire		
Film adhésif VWR pour microplaques	VWR	60941-070

Tableau 6. Équipement (non fourni)

Équipement	Source	Numéro catalogue
Congélateur de laboratoire à -80°C	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Congélateur de laboratoire de -15°C à -25°C	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Réfrigérateur de laboratoire de 2°C à 8°C	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Pipettes multicanaux réglables (2 à 20 µL, 20 à 200 µl)	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Micropipettes réglables (0,5 à 10 µl, 2 à 20 µl, 20 à 200 µl, 100 à 1 000 µl)	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Centrifugeuses (pour tubes de 0,6 à 5 ml et plaques à 96 puits)	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Hotte pour PCR	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Vortex	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Bloc(s) froid(s)	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Bloc de chaleur sèche (Capable de chauffer une plaque de PCR à 65°C +/- 1°C pendant 5 minutes)	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Supports pour PCR IsoFreeze®	Thomas Scientific	1148D61
Supports pour tubes de microcentrifugation	Fournisseur général de laboratoire	s.o.
Lecteur flash USB	Fournisseur général de laboratoire	s.o.

Stockage, manipulation et stabilité des réactifs

- Dès réception, stocker le kit LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete entre -15°C et -25°C.
- Après la première utilisation, congeler les réactifs pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete entre -15°C et -25°C.
- Toujours vérifier la date de péremption avant utilisation. Ne pas utiliser de réactifs périmés.
- Protéger les sondes fluorogènes de la lumière - les sondes sont un composant du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Internal Control & Primer Mix (IC/P Mix).
- Le Extraction Buffer, Internal Control/Primer Mix, et Master Mix doivent être décongelés et conservés sur un bloc froid constamment pendant la préparation et l'utilisation.
- Les contrôles externes, PCM et NCM doivent être décongelés et conservés au froid constamment pendant la préparation et l'utilisation.
- La décongélation et la congélation répétées des réactifs plus de 3 fois doivent être évitées, car cela pourrait affecter les performances du produit.

5. Prélèvement, manipulation, stockage et transport des échantillons

La collecte et la manipulation appropriées des échantillons sont essentielles au diagnostic en laboratoire des maladies infectieuses. Un échantillon qui n'est pas prélevé correctement peut entraîner des résultats de test incorrects. Les tests de dépistage de virus respiratoires doivent être effectués en concertation avec un fournisseur de soins de santé. Les échantillons doivent être prélevés dès que possible une fois qu'une décision a été prise de poursuivre les tests, quel que soit le moment de l'apparition des symptômes. La formation à la collecte d'échantillons est fortement recommandée en raison de l'importance de la qualité des échantillons.

Prélèvement et manipulation des échantillons

- Suivre les instructions du dispositif de collecte d'échantillons pour les procédures de collecte et de manipulation appropriées.
- Les échantillons sur écouvillon doivent être prélevés uniquement à l'aide d'écouvillons dotés d'une pointe synthétique, comme du nylon ou du Dacron®, et d'une tige en aluminium ou en plastique. Les écouvillons d'alginate de calcium ne sont pas acceptables et les cotons-tiges à manche en bois ne sont pas recommandés.
- **Écouvillon humide** : les échantillons doivent être prélevés et placés dans un milieu de transport approprié. Les écouvillons fournis dans un maximum de 3 ml de milieu de transport compatible sont acceptables, cependant, pour des performances optimales, 1 ml de tampon est suggéré.
- **Écouvillon sec :** les échantillons doivent être prélevés et placés dans un tube de transport sec et stérile, tel qu'un tube Falcon standard de 15 ml. Pour l'élution d'un échantillon sur écouvillon sec, ajouter 1 ml de milieu de transport compatible et reboucher le tube. Fortement agiter le tube contenant l'écouvillon pendant 30 secondes avec des impulsions intermittentes. Incuber l'écouvillon à température ambiante pendant au moins 10 minutes. Retirer (attention à la contamination croisée due aux éclaboussures) et jeter l'écouvillon dans les déchets biologiques dangereux.
- Pour de plus amples informations sur la collecte, le stockage et le transport des échantillons soupçonnés de contenir le SARS-CoV-2, se reporter aux directives de l'Organisation Mondiale de la Santé sur la biosécurité en laboratoire liées à la maladie à coronavirus (COVID-19) : directives provisoires, 28 janvier 2021, https:// www.who.int/publications/i/item/WHO-WPE-GIH-2021.1

Stockage des échantillons

- Toujours suivre les instructions du fabricant pour un stockage correct des échantillons.
- **Écouvillon sec :** les échantillons doivent être conservés comme suit :
  - Température ambiante (15 à 30°C) pendant jusqu'à 72 heures
  - Réfrigéré (2 à 8°C) pendant jusqu'à 96 heures
- **Écouvillon humide :** les échantillons doivent être conservés comme suit :
  - Température ambiante (15 à 30°C) pendant jusqu'à 72 heures
  - Réfrigéré (2 à 8°C) pendant jusqu'à 96 heures
  - Congelé (≤ -20C°) pendant jusqu'à 1 semaine
- Si un retard dans le test est prévu, conserver les échantillons à -20°C ou moins.
- Si les échantillons ne peuvent pas être testés dans les 72 heures suivant le prélèvement, les échantillons peuvent être congelés à < -20°C pendant 1 semaine jusqu'à ce qu'ils soient testés.
- La décongélation et la congélation répétées des écouvillons doivent être évitées, car cela pourrait affecter les performances du produit. Les échantillons peuvent être congelés et décongelés jusqu'à 3 fois.

Transport d'échantillons

- Les échantillons doivent être emballés, expédiés et transportés conformément à l'édition actuelle de la réglementation des marchandises dangereuses de l'Association du transport aérien international (IATA). Suivre les réglementations d'expédition pour la substance biologique UN-3373, catégorie B lors de l'envoi d'échantillons de SARS-CoV-2 potentiels.
- Maintenir les conditions de stockage des échantillons comme décrit dans la section Prélèvement, manipulation, stockage et transport des échantillons de ce document.
- Les échantillons doivent être expédiés conformément aux réglementations de transport locales, régionales, nationales et internationales en vigueur.

6. Avertissements et précautions

- Pour usage diagnostique *in vitro* (IVD).
- Le Salt Mix et le Master Mix contiennent de l'albumine de sérum bovin.
- Le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete est uniquement destiné à la détection de l'acide nucléique du SARS-CoV-2 et non à d'autres virus ou agents pathogènes.
- Ne pas manger, boire, fumer, appliquer des cosmétiques ou manipuler des lentilles de contact dans les zones où des réactifs et des échantillons humains sont manipulés.
- Manipuler tous les échantillons comme s'ils étaient infectieux en utilisant des procédures de laboratoire sûres.
- Pour de plus amples informations sur la collecte, le stockage et le transport des échantillons, se reporter aux directives de l'Organisation mondiale de la santé sur la biosécurité en laboratoire liées à la maladie à coronavirus (COVID-19) : directives provisoires, 28 janvier 2021. https://www.who.int/publications/i/item/WHO-WPE-GIH-2021.1
- Les caractéristiques de performance ont été déterminées avec des échantillons naso-pharyngés provenant de personnes présentant des signes et des symptômes d'infection qui sont soupçonnées d'être atteintes de la COVID-19.
- Utiliser un équipement de protection individuelle tel que, mais sans s'y limiter, des gants et des blouses de laboratoire lors de la manipulation des réactifs du kit pendant l'exécution de ce test et de la manipulation de matériaux, y compris des échantillons, des réactifs, des pipettes et d'autres équipements et réactifs.
- Éliminer les réactifs du kit non utilisés et les échantillons humains conformément aux réglementations locales, régionales, nationales et internationales.
- Les résultats négatifs n'excluent pas une infection par le SARS-CoV-2 et ne doivent pas être utilisés comme seule base pour les décisions de prise en charge des patients. Les résultats négatifs doivent être associés aux observations cliniques, aux antécédents du patient et aux informations épidémiologiques.
- Il existe un risque de valeurs faussement positives résultant d'une contamination croisée par des organismes cibles, leurs

acides nucléiques ou leur produit amplifié, ou de signaux non spécifiques dans ce test.

- Pour éviter la contamination de l'environnement et/ou des réactions de test avec le SARS-CoV-2, ne pas ouvrir les réactions post-amplification.
- Communiquer les résultats aux autorités de santé publique appropriées, comme l'exigent les réglementations locales, régionales, nationales et internationales.
- Les réactifs utilisés avec ce test comprennent des matériaux contenant de la guanidine. Des composés hautement réactifs et/ou toxiques peuvent se former s'ils sont combinés à l'hypochlorite de sodium (eau de Javel).
- Utiliser uniquement les composants répertoriés fournis pour le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete ; d'autres produits LumiraDx peuvent ne pas contenir les mêmes formulations que celles nécessaires à ce test.
- Les écarts par rapport aux protocoles, paramètres, composants, instruments et versions de logiciel d'instrument décrits dans cette notice peuvent donner des résultats erronés.

7. Instrument de PCR en temps réel et synthèse du protocole

Le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete contient des balises moléculaires marquées avec des fluorophores pour la détection et la différenciation des acides nucléiques de deux gènes distincts du SARS-CoV-2 ainsi qu'un témoin interne. Un récapitulatif des fluorophores et de leurs longueurs d'onde d'excitation et d'émission se trouve dans le **tableau 7.Cible/Fluorophores pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete**. Les profils de température d'amplification pour les instruments sont fournis à la **figure 1.** et **dans les tableaux 8a** à **8d.** Les paramètres optiques et d'analyse des instruments sont fournis dans le **tableau 9a et le tableau 9c .**

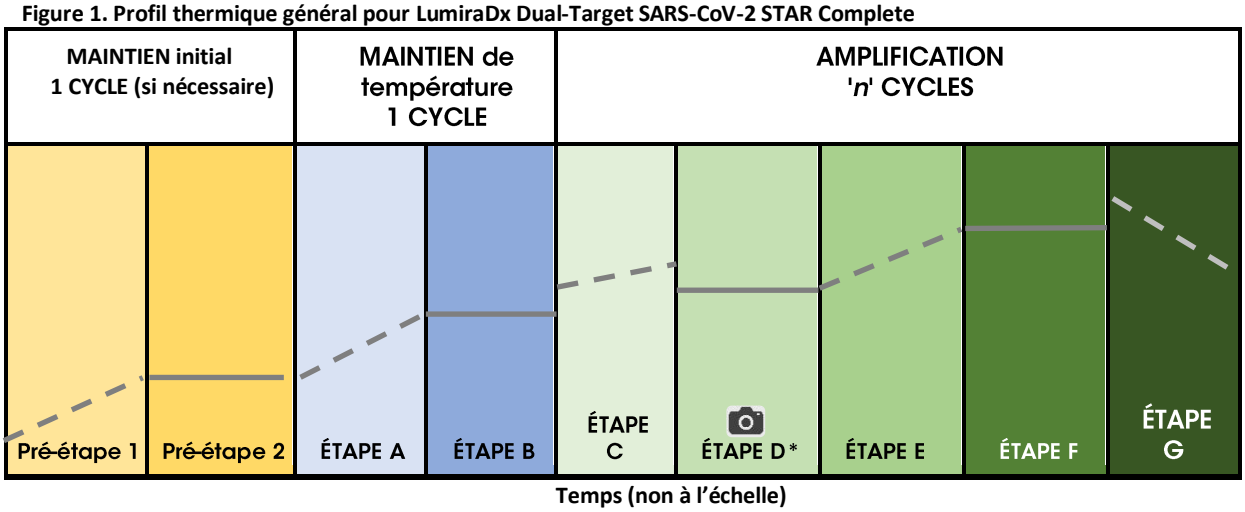
Des instructions détaillées pour la configuration des instruments se trouvent à **l'annexe A.**

REMARQUE : Des couvercles chauffés doivent être utilisés pour toutes les réactions de cyclage.
REMARQUE : Aucun colorant de référence passif ne doit être sélectionné dans les paramètres de l'instrument.
REMARQUE : Les thermocycleurs doivent être programmés et mis en file d'attente avant la préparation des réactifs.

Tableau 7. Cible/Fluorophores pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete

Cible	Colorant	Extincteur	Excitation	Émission
Cible 1 relative au SARS-CoV-2	FAM	Extincteur sombre	470	520
Cible 2 relative au SARS-CoV-2	Cy5/Mustang Purple[MC]	Extincteur sombre	648/640	668/682
Internal Control	ROX	Extincteur sombre	580	623

Figure 1. Profil thermique général pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete



* Acquisition d'images.

Tableau 8a. Profil thermique pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete : Applied Biosystems QuantStudio 5 (96 puits)

	Instrument	**Applied Biosystems QS5**	
	Format	**96 puits**	
	Réglage du volume	**60 µl**	
	Cycles d'amplification	**'20'**	
Vitesse de montée	**Étape préliminaire 1 (Étape 1 de maintien)**	**2°C/s**	
Température/Temps	**Étape préliminaire 2 (Étape 1 de maintien)**	**30°C**	**1 min**
Vitesse de montée	**ÉTAPE A (Étape 2 de maintien)**	**2°C/s**	
Température/Temps	**ÉTAPE B (Étape 2 de maintien)**	**51°C**	**3 min**
Vitesse de montée	**ÉTAPE C**	**2°C/s**	
Température/Temps	**ÉTAPE D***	**51°C**	**25 s**
Vitesse de montée	**ÉTAPE E**	**2°C/s**	
Température/Temps	**ÉTAPE F**	**61°C**	**1 s**
Vitesse de montée	**ÉTAPE G**	**2°C/s**	

***** Acquérir l'image pendant **l'ÉTAPE D** du cyclage (51°C).

REMARQUE : Des couvercles chauffés doivent être utilisés pour toutes les réactions de cyclage.
REMARQUE : Aucun colorant de référence passif ne doit être sélectionné dans les réglages de l'instrument.
REMARQUE : Les thermocycleurs doivent être programmés et mis en file d'attente avant la préparation des réactifs.

Tableau 8b. Profil thermique pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete : Applied Biosystems QuantStudio 7 Flex (96 puits)

	Instrument	**Applied Biosystems QS7 Flex**	
	Format	**96 puits**	
	Réglage du volume	**60 µl**	
	Cycles d'amplification	**'20'**	
Vitesse de montée	**Étape préliminaire 1 (Étape 1 de maintien)**	**1,946°C/s**	
Température/Temps	**Étape préliminaire 2 (Étape 1 de maintien)**	**30°C**	**1 min**
Vitesse de montée	**ÉTAPE A (Étape 2 de maintien)**	**1,946°C/s**	
Température/Temps	**ÉTAPE B (Étape 2 de maintien)**	**51°C**	**3 min**
Vitesse de montée	**ÉTAPE C**	**1,645°C/s**	
Température/Temps	**ÉTAPE D***	**52°C**	**25 s**
Vitesse de montée	**ÉTAPE E**	**1,946°C/s**	
Température/Temps	**ÉTAPE F**	**61°C**	**1 s**
Vitesse de montée	**ÉTAPE G**	**1,946°C/s**	

***** Acquérir l'image pendant **l'ÉTAPE D** du cycle (52°C).

REMARQUE : Des couvercles chauffés doivent être utilisés pour toutes les réactions de cyclage.
REMARQUE : Aucun colorant de référence passif ne doit être sélectionné dans les paramètres de l'instrument.
REMARQUE : Les thermocycleurs doivent être programmés et mis en file d'attente avant la préparation des réactifs.

Tableau 8 c. Profil thermique pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete : Bio-Rad CFX OPUS (96 puits)

	Instrument	**CFX OPUS**	
	Format	**96 puits**	
	Réglage du volume	**0 µl**	
	Cycles d'amplification	**'26'**	
Température/Temps	**Étape préliminaire 1**	**Instrument par défaut**	
Température/Temps	**Étape préliminaire 2**	**45°C**	**00:00 (Définitivement)****
Vitesse de montée	**ÉTAPE A**	**Instrument par défaut**	
Température/Temps	**ÉTAPE B**	**49,5°C**	**3 min**
Vitesse de montée	**ÉTAPE C**	**Instrument par défaut**	
Température/Temps	**ÉTAPE D***	**49°C**	**12 s**
Vitesse de montée	**ÉTAPE E**	**Instrument par défaut**	
Température/Temps	**ÉTAPE F**	**67,5°C**	**1 s**
Vitesse de montée	**ÉTAPE G**	**Instrument par défaut**	

* Acquérir l'image pendant **l'ÉTAPE D** du cyclage (49°C).

****PRE-STEP est destiné à permettre le chauffage du couvercle. Ne pas charger la plaque de RT-PCR et ne pas poursuivre l'ÉTAPE A du protocole tant que le couvercle n'a pas atteint 70°C. La plaque est insérée une fois la température atteinte. Une fois la plaque chargée, l'étape de maintien (HOLD) doit être ignorée pour poursuivre le reste du protocole**

REMARQUE : Aucun colorant de référence passif ne doit être sélectionné dans les paramètres de l'instrument.
REMARQUE : Les thermocycleurs doivent être programmés et mis en file d'attente avant la préparation des réactifs.

Tableau 8d. Profil thermique pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete : Analytik Jena qTOWER³ (96 puits)

	Instrument	**qTOWER³**	
	Format	**96 puits**	
	Réglage du volume	**60 µl**	
	Cycles d'amplification	**'20'**	
Vitesse de montée	**ÉTAPE A**	**2°C/s**	
Température/Temps	**ÉTAPE B**	**51°C**	**3 min**
Vitesse de montée	**ÉTAPE C**	**2°C/s**	
Température/Temps	**ÉTAPE D***	**49°C**	**10 s**
Vitesse de montée	**ÉTAPE E**	**2°C/s**	
Température/Temps	**ÉTAPE F**	**61°C**	**1 s**
Vitesse de montée	**ÉTAPE G**	**2°C/s**	

REMARQUE : Préchauffer le couvercle à 70°C
* Acquérir l'image pendant **l'ÉTAPE D** du cyclage (49°C).

Tableau 9a. Paramètres optiques et d'analyse :
Instruments de RT-PCR Applied Biosystems QuantStudio 5 et QuantStudio 7 Flex (96 puits)

Format de plaque	Cible du système (Fluor)	Paramètres d'excitation/de détection de l'instrument	Cycles de base	Seuil
QS5 96 puits	SARS-CoV-2 Target 1 (FAM) SARS-CoV-2 Target 2 (Cy5/Mustang Purple) Internal Control (ROX)	470/520 ~640/~68 2 580/623	1-2 1-2 1-2	100 000 100 000 100 000
QS7 Flex 96 puits	SARS-CoV-2 Target 1 (FAM) SARS-CoV-2 Target 2 (Cy5/Mustang Purple) Internal Control (ROX)	470/520 ~640/~68 2 580/623	1-2 1-2 1-2	500 000 250 000 500 000

Tableau 9b. Paramètres optiques et d'analyse : Instrument de RT-PCR Bio-Rad CFX OPUS

Format de plaque	Cible (Fluor)	Cycles de base	Seuil
96 puits	SARS-CoV-2 Target 1 (FAM) SARS-CoV-2 Target 2 (Cy5) Internal Control (ROX)	1-2 1-2 1-2	5 000 5 000 5 000

Tableau 9c. Paramètres optiques et d'analyse : instrument qTOWER^3 RT-PCR (96 puits)

Format de plaque	Cible du système (Fluor)	Cycles de base	Seuil de surveillance
96 puits	SARS-CoV-2 Target 1 (FAM) SARS-CoV-2 Target 2 (Cy5) Internal Control (ROX)	1-6 1-6 1-6	1,5 5 5

8. Flux de travail du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete

Contrôle qualité

Des contrôles internes, positifs et négatifs sont recommandés pour contrôler le fonctionnement des réactifs et pour démontrer le bon fonctionnement du test.

Contrôles internes

- Un Internal Control est présent dans chaque réaction du test LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete pour la validation de la stabilité et des performances des enzymes, des amorces et des sondes.

Témoins positifs et négatifs

- Tester tous les milieux témoins positifs et négatifs lors de l'analyse d'échantillons de diagnostic et avec chaque nouveau lot du kit LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete pour vous assurer que tous les réactifs et les composants du kit fonctionnent correctement.

Préparation des échantillons

Le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete supprime la purification et l'extraction des échantillons en combinant la lyse et l'amplification en une seule étape. Ce test est compatible avec des écouvillons stockés dans un tube vide (sec) ou avec des écouvillons stockés dans un milieu de transport.

REMARQUE : Veuillez manipuler le PCM avec précaution car il peut provoquer des faux positifs en cas de renversement accidentel ou de manipulation négligente. Pour réduire le risque de contamination croisée, manipuler le PCM dans une zone distincte de celle où les échantillons sont traités et utiliser des embouts de pipette distincts pour tous les matériaux.

REMARQUE : Les technologies d'amplification d'acides nucléiques, y compris qSTAR, sont extrêmement sensibles et l'introduction accidentelle de produit provenant de réactions d'amplification précédentes peut entraîner des résultats faussement positifs. Des résultats incorrects peuvent se produire si l'échantillon ou les réactifs qSTAR utilisés dans l'étape d'amplification deviennent contaminés par l'introduction accidentelle d'un amplicon. Le flux de travail dans le laboratoire doit toujours se dérouler de manière unidirectionnelle afin de minimiser le risque de tels événements.

- Maintenir des zones séparées pour la configuration du test et la manipulation des échantillons.
- Changer les embouts de pipettes anti-aérosol entre tous les transferts manuels de liquide.
- Lors de la préparation des échantillons, le respect des bonnes techniques de laboratoire est essentiel pour minimiser

le risque de contamination croisée entre les échantillons et l'introduction accidentelle de nucléases dans les échantillons pendant et après la procédure d'extraction. Une technique aseptique appropriée doit toujours être utilisée lors d'un travail avec des acides nucléiques.

- Maintenir un équipement séparé et dédié (par ex., des pipettes, des microcentrifugeuses) et des fournitures (par ex., des tubes de microcentrifugation, des embouts de pipette filtrés) pour la configuration du test et la manipulation des échantillons.
- Porter une blouse de laboratoire propre et des gants jetables sans poudre (non portés précédemment) lors de la configuration des tests.
- Changer souvent de gants et chaque fois qu'une contamination est suspectée.
- Garder les tubes bouchés et les plaques scellées dans la mesure du possible.
- Il est recommandé d'utiliser un bloc froid pour garder les matériaux froids, car des tubes lâches sur de la glace humide peuvent entraîner une contamination.
- Le Extraction Buffer pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete, le IC/P Mix pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete et le Master Mix pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete doivent être décongelés et maintenus sur un bloc froid équilibré à 4°C en permanence pendant la préparation et l'utilisation. À condition que les réactifs ne soient pas entièrement consommés lors de la première utilisation, les réactifs ne peuvent être recongelés plus de trois fois.
- Les surfaces de travail, les pipettes et les centrifugeuses doivent être nettoyées et décontaminées avec des produits de nettoyage (p. ex. javel à 10 %, DNAZap™, RNaseZap® ou RNase AWAY®, etc.) pour minimiser le risque de contamination par des acides nucléiques. L'eau de Javel résiduelle doit être éliminée à l'aide d'eau exempte de nucléase et d'éthanol à 70 %.

Écouvillon sec (format standard)

a. Si l'écouvillon est fourni sec, transférer (1) ml d'un milieu de transport compatible dans le tube et reboucher le tube.
b. Fortement agiter le tube contenant l'écouvillon pendant 30 secondes avec des impulsions intermittentes.
c. Incuber l'écouvillon à température ambiante pendant au moins 10 minutes.
d. Retirer et jeter l'écouvillon dans les déchets biologiques dangereux.
REMARQUE : Une aliquote de cet échantillon sera directement chargée dans la plaque de RT-PCR.

Écouvillon sec (format de puits profond)

a. Distribuer 100 ml d'un milieu de transport compatible dans un réservoir de réactif approprié.
b. À l'aide d'une pipette multicanaux, transférer 1 ml de milieu dans chacun des 94 puits du réservoir de puits profond, en laissant A1 et A12 vides pour les témoins externes.
c. Placer et faire tremper le ou les écouvillon(s) dans les puits appropriés pendant au moins 10 minutes, puis agiter soigneusement en faisant tourner l'écouvillon jusqu'à 5 fois.
d. Exprimer le liquide de l'écouvillon en faisant tourner l'écouvillon contre le côté du puits tout en retirant l'écouvillon du puits. (Attention à la contamination croisée due aux éclaboussures).
a. Jeter l'écouvillon dans les déchets biologiques dangereux.
REMARQUE : Une aliquote de cet échantillon sera directement chargée dans la plaque de RT-PCR.

Écouvillon humide

a. Aucune préparation supplémentaire n'est requise, cependant, les échantillons dans plus de 3 ml de milieu de transport compatible peuvent présenter une sensibilité réduite en raison d'une concentration plus faible de virus dans le milieu. Un (1) ml de milieu de transport est recommandé.

REMARQUE : Une aliquote de cet échantillon sera directement chargée dans la plaque de RT-PCR.

Préparation du réactif qSTAR et configuration de la plaque

Veuillez lire et bien comprendre les instructions suivantes avant d'essayer de préparer le Reaction Mix et les témoins.

Tous les composants doivent être décongelés et conservés sur un bloc froid équilibré entre 2 et 8°C pour maintenir l'intégrité des réactifs. Il est recommandé de mettre en file d'attente l'instrument de RT-PCR validé avant d'exécuter les instructions ci-dessous pour garantir le maintien des performances de ce test.

Format à 96 puits (volume de réaction de 60 µl)

1. Préparation des témoins, des échantillons et du Extraction Buffer
   a. Décongeler le PCM, le NCM et le Extraction Buffer pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete sur un bloc froid équilibré entre 2 et 8°C.
   b. Fortement agiter les tubes pendant 5 secondes.
   c. Centrifuger les tubes pendant 5 secondes pour recueillir les réactifs au fond de chaque tube.
   d. Transférer directement 23,0 µl de PCM, 23,0 µl de NCM et 23,0 µl d'échantillon(s) dans les puits appropriés de la plaque de RT-PCR pré-refroidie.
   e. Ajouter 5,0 µl de Extraction Buffer à chaque puits contenant des témoins et un ou des échantillon(s).

   REMARQUE : L'ajout du Extraction Buffer peut être simplifié en utilisant une pipette multicanaux.

f. Bien mélanger les témoins et le ou les échantillon(s) pendant au moins 10 secondes. Éviter de créer des bulles.
g. Sceller la plaque de RT-PCR avec un film d'étanchéité et centrifuger pour recueillir le liquide au fond des puits afin de s'assurer qu'aucun réactif/échantillon n'est retenu sur les parois latérales des puits.
h. Mettre la plaque à 65°C pendant 5 minutes puis replacer immédiatement la plaque de RT-PCR sur le bloc froid.

REMARQUE : La chaleur de la plaque à 65°C pourrait potentiellement augmenter la température du bloc froid à plus de 8°C. Il est recommandé de remplacer le bloc froid par un bloc frais (équilibré entre 2 et 8°C) pour chaque configuration.

REMARQUE : Si de la condensation est présente, la plaque peut être centrifugée pour recueillir le liquide au fond des puits.

2. Préparation du Reaction Mix
   a. Décongeler le Salt Mix, IC/P Mix, et Master Mix pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete sur un bloc froid équilibré entre 2 et 8°C.
   b. Se procurer un tube stérile (sans RNase/DNase) et le placer sur un bloc froid.
   c. Déterminer le nombre de réactions (*n*) à préparer par dosage :

Tableau 10. Volumes de Reaction Mix (réactions de 60 µl)

Reaction Mix	1 réaction	100 réactions	*n* Réactions	
Salt Mix	10,0 µl	1 000,0 µl	*n* x	10,0 µl
IC/P Mix	2,0 µl	200,0 µl	*n* x	2,0 µl
Master Mix	20,0 µl	2 000,0 µl	*n* x	20,0 µl
Volume total	**32,0 µl**	**3 200,0 µl**	*n* x	**32,0 µl**

   d. Vigoureusement agiter le Salt Mix pendant 20 secondes uniquement, centrifuger pendant 5 secondes pour recueillir le réactif au fond du tube et **IMMÉDIATEMENT** ajouter le volume approprié au tube pré-refroidi.
   e. Retourner l'IC/P Mix pour mélanger puis centrifuger pendant 5 secondes pour recueillir les réactifs au fond du tube (ne pas agiter) et **IMMÉDIATEMENT** ajouter le volume approprié au Salt Mix
   f. Bien mélanger pendant au moins 10 secondes (éviter de créer des bulles). Centrifuger brièvement (ne pas fortement agiter et ne pas faire tourner trop longtemps), puis replacer le tube sur le bloc froid.
   g. Retourner le Master Mix pour mélanger puis centrifuger pendant 5 secondes pour recueillir les réactifs au fond du tube (ne pas agiter les échantillons) et **IMMÉDIATEMENT** ajouter le volume approprié pour finaliser le Reaction Mix.
   h. Bien mélanger pendant au moins 10 secondes (éviter de créer des bulles). Brièvement centrifuger, puis replacer le tube sur le bloc froid.
   i. Délicatement retirer le film d'étanchéité de la plaque de RT-PCR et ajouter 32,0 µl de Reaction Mix dans chaque puits avec le témoin ou l'échantillon. Bien mélanger pendant au moins 10 secondes (éviter de créer des bulles).
   j. Appliquer le film adhésif optique pour plaque approprié. Centrifuger la plaque pendant au moins 20 secondes à 2 000 tr/min pour recueillir la réaction au fond de chaque puits. Après centrifugation, confirmer qu'aucune bulle ne persiste. Si des bulles sont observées, répéter cette étape.
   k. Placer immédiatement la plaque à 96 puits dans l'instrument de RT-PCR préalablement mis en file d'attente.

Amplification

Une fois que la plaque de RT-PCR a été placée dans un instrument de RT-PCR validé avec le protocole approprié sélectionné en fonction de la **section 7 Instrument de PCR en temps réel et synthèse du protocole** et démarrer l'analyse.

Interprétation et rapport des résultats

Tous les témoins du test doivent être examinés avant l'interprétation des résultats des patients. Si les témoins ne sont pas valides, les résultats ne peuvent pas être interprétés.

LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Controls

Le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Positive Control Media (PCM) est un témoin positif externe nécessaire pour garantir que les réactifs du test détectent correctement les deux cibles d'acide nucléique de SARS-CoV-2. Il est composé d'un modèle de SARS-CoV-2 quantifié. Le témoin est formulé dans une matrice exclusive avec des particules virales purifiées et intactes contenant un génome de longueur entière, qui ont été rendues non infectieuses.

Le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Negative Control Media (NCM) est un témoin négatif externe nécessaire pour surveiller qu'une contamination croisée, ou une contamination des réactifs, ne s'est pas produite pendant le traitement de l'échantillon ou la configuration de la réaction et est composé de 1x solution saline tamponnée au phosphate (PBS), pH 7,4.

Un Internal Control (un composant du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Internal Control et Primer Mix) consiste en un ARN synthétique -auquel les amorces du test peuvent se lier et s'amplifier - avec une région de sonde unique pour la détection des balises moléculaires dans le canal **ROX**. Le Internal Control sert de témoin pour la détection des inhibiteurs présents dans l'échantillon, garantit qu'une amplification adéquate a eu lieu et que les enzymes et les amorces n'ont pas été accidentellement endommagées pendant la production, l'expédition et le stockage.

L'algorithme de test pour tous les instruments est basé sur la pratique standard consistant à déterminer la fluorescence de fond et à appeler un échantillon bien positif si le changement du signal fluorescent dépasse un seuil établi. Les niveaux et les seuils de fluorescence de fond sont calculés et appliqués à chaque analyse comme indiqué dans le **tableau 9a** au **tableau 9c.** Les résultats positifs et négatifs sont basés sur un puits d'échantillon dépassant largement ce seuil. Aucune limite de Cycle Threshold (Ct) n'est utilisée pour cet algorithme de test, et il est prévu que toutes les réactions se produisent entre une valeur Ct de 3 à 25.

L'échec du PCM ou du NCM invalide le test qSTAR et les résultats ne doivent pas être rapportés. L'analyse qSTAR doit être répétée avec des aliquotes fraîches de témoins externes et d'échantillon. Si les résultats continuent d'être non valides, contacter le support technique. Si le Internal Control (IC) ne parvient pas à s'amplifier (en l'absence de signal positif), l'analyse qSTAR doit être répétée comme décrit ci-dessus.

Tableau 11. Résultats attendus des témoins externes sur les instruments à 96 puits Applied Biosystems QuantStudio5, QuantStudio 7 Flex, Analytik Jena qTOWER[3], Bio-Rad CFX Opus

Type/Nom de témoin	Utilisé pour surveiller	SARS-CoV-2 Target 1 (FAM) Valeur Ct attendue (Résultat)	SARS-CoV-2 Target 2 (Cy5/Mustang Purple) Valeur Ct attendue (Résultat)	IC (ROX) Valeur Ct attendue (Résultat)
PCM	Échec substantiel du réactif, y compris l'amorce et intégrité des sondes	3,0 ≥ Ct ≤ 25,0 + (Positif)	3,0 ≥ Ct ≤ 25,0 + (Positif)*	3,0 ≥ Ct ≤ 25,0 + (Positif) OU - (Négatif)*
NCM	Réactif et/ou contamination environnementale	Ct non détecté - (Négatif)	Ct non détecté - (Négatif)	3,0 ≥ Ct ≤ 25,0 + (Positif)

*Il n'est pas nécessaire que le Internal Control ou Target 2 s'amplifie pour que le PCM soit considéré comme positif. Voir Tableau 15.

Résultats de l'échantillon pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete

L'évaluation d'un résultat de test d'échantillon doit être effectuée après que le PCM et le NCM ont été examinés et déterminés comme étant valides. Si les témoins ne sont pas valides, les résultats ne peuvent pas être interprétés.

Tableau 12. Plages de Ct pour des résultats d'analyse positifs pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete sur les instruments à 96 puits Applied Biosystems QuantStudio5 et QuantStudio 7 Flex, Analytik Jena qTOWER ³, Bio-Rad CFX Opus

Échantillon ou témoin	Plage de Ct positif*	IC (ROX) Valeur de Ct	Interprétation des résultats
SARS-CoV-2 Target 1 (FAM)	3,0 ≥ Ct ≤ 25,0	3,0 ≥ Ct ≤ 25,0 + (Positif) OU - (Négatif)**	SARS-CoV-2 détecté
SARS-CoV-2 Target 2 (Cy5/Mustang Purple)	3,0 ≥ Ct ≤ 25,0	3,0 ≥ Ct ≤ 25,0 + (Positif) OU - (Négatif)**	SARS-CoV-2 détecté

*Pour les échantillons générant une valeur de Ct supérieure à 0 et inférieure à 3, effectuer une dilution 1:100 et/ou de 1:10 en utilisant un milieu compatible non inoculé et traiter et tester conformément à la **section 7**.
** Le Internal Control n'est pas tenu de s'amplifier.

Tableau 13. Interprétation des résultats pour le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete sur les instruments à 96 puits Applied Biosystems QuantStudio5 et QuantStudio 7 Flex, Analytik Jena qTOWER³, Bio-Rad CFX Opus

Échantillon			Interprétation et rapport des résultats
SARS-CoV-2 Target 1 (FAM)	SARS-CoV-2 Target 2 (Cy5/Mustang Purple)	IC (ROX)	
+ (Positif)	**+ (Positif)**	+ (Positif) OU - (Négatif)*	SARS-CoV-2 détecté. Rapporter les résultats.
+ (Positif)	- (Négatif)	+ (Positif) OU - (Négatif)*	SARS-CoV-2 détecté. Rapporter les résultats.
- (Négatif)	**+ (Positif)**	+ (Positif) OU - (Négatif)*	SARS-CoV-2 détecté. Rapporter les résultats.
- (Négatif)	- (Négatif)	**+ (Positif)**	SARS-CoV-2 non détecté. Rapporter les résultats. Envisager de tester d'autres agents pathogènes respiratoires.
- (Négatif)	- (Négatif)	- (Négatif)	Non valide. Ne pas communiquer les résultats. Retester le même échantillon traité. Si le nouveau test est également non valide, se procurer un nouvel échantillon et refaire le test.

* Le Internal Control n'est pas tenu de s'amplifier.

9. Limites

- Pour exportation uniquement.
- Ne pas utiliser les réactifs après leur date de péremption.
- Ce test est qualitatif et ne fournit pas de valeur(s) quantitative(s) pour le ou les organisme(s) cible(s) dans l'échantillon.
- La détection des acides nucléiques dépend de la collecte, de la manipulation, du transport, du stockage et de la préparation appropriés des échantillons. Une collecte, un transport ou un stockage inappropriés des échantillons peuvent entraver la capacité de ce test à détecter les séquences cibles.
- Ce test ne peut pas exclure les maladies causées par d'autres agents pathogènes bactériens ou viraux.
- Les résultats négatifs n'excluent pas l'infection par un organisme cible et ne doivent pas être la seule base pour le traitement des décisions de prise en charge des patients.
- Les performances de LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete ont été évaluées uniquement à l'aide d'échantillons d'écouvillonnage naso-pharyngé.
- Il existe un risque de résultats faussement négatifs dus à la présence de variants de séquence dans les cibles virales de ce test.
- Les inhibiteurs présents dans l'échantillon et/ou les erreurs dans le suivi de la procédure de test peuvent conduire à des résultats faussement négatifs.
- Un professionnel de santé qualifié doit interpréter les résultats du test en conjonction avec les antécédents médicaux du patient, les signes et les symptômes cliniques et les résultats d'autres tests de diagnostic.
- Les analytes cibles (séquences virales) peuvent persister *in vivo*, indépendamment de la viabilité du virus. La détection d'analyte(s) cible(s) n'implique pas que le ou les virus correspondants sont infectieux, ni qu'ils sont les agents responsables des symptômes cliniques.
- Ces performances du test n'ont pas été établies chez les patients immunodéprimés.
- Les performances cliniques de ce test n'ont pas été établies chez tous les variants en circulation, mais on s'attend à ce qu'elle reflète les variants prévalents en circulation au moment et sur le lieu de l'évaluation clinique. Les performances au moment du test peuvent varier en fonction des variants en circulation, y compris les nouvelles souches émergentes de virus

cibles et leur prévalence, qui évolue avec le temps.

10. Caractéristiques des performances

Études analytiques

Sensibilité analytique : (Matrice d'échantillons ensemencés)

La sensibilité analytique, ou limite de détection (LoD) du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete a été déterminée à l'aide d'un virus ensemencé directement dans une matrice d'échantillons négatifs consistant en un milieu d'écouvillonnage naso-pharyngé négatif regroupé et testé sur un instrument de RT-PCR validé.

Pour déterminer la LoD, des dilutions en série de virus ont été réalisées et ensemencées dans une matrice d'échantillons négatifs. Une étude de recherche de gamme a été réalisée avec 5 réplicats à chaque concentration pour déterminer le point auquel au moins 1 des 5 réplicats n'a pas été détectée. 96 réplicats par concentration ont ensuite été réalisés sur la base de l'étude de recherche de gamme. La concentration la plus faible à laquelle au moins 95 % des réplicats étaient positifs a été déterminée comme étant la LoD. La LoD confirmée pour le virus ensemencé dans la matrice d'échantillons négatifs est indiquée dans le **tableau 14**.

Tableau 14. Détermination de la LOD pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete (matrice d'échantillons ensemencés)

Organisme	Souche	Concentration à la LoD
SARS-CoV-2	USA-WA1/2020	1,54 x 10^1 $TCID_{50}$/ml

Sensibilité analytique : LoD (écouvillon ensemencé)

La sensibilité analytique, ou limite de détection (LoD), du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete a été déterminée à l'aide d'un virus dilué dans une matrice d'échantillons négatifs et ensemencé sur des écouvillons qui ont ensuite été élués dans 1x PBS, pH 7,4 et testés dans un instrument de RT-PCR validé.

Sur la base de la LoD établie, 96 réplicats par concentration ont été réalisés. La concentration la plus faible à laquelle au moins 95 % des réplicats étaient positifs a été déterminée comme étant la LoD. La LoD confirmée pour les écouvillons ensemencés avec le virus et élués dans une matrice d'échantillons négatifs est indiquée dans le **tableau 15**.

Tableau 15. Détermination de la LOD pour le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete (écouvillon ensemencé)

Organisme	Souche	Concentration à la LoD
SARS-CoV-2	USA-WA1/2020	3,07 x 10^1 $TCID_{50}$/mL

Sensibilité analytique : LoD (écouvillon sec)

La sensibilité analytique, ou limite de détection (LoD), du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete a été déterminée à l'aide d'écouvillons ensemencés avec un virus, **séchés** et élués dans une matrice d'échantillons négatifs et testés sur un instrument de RT-PCR validé.

Sur la base de la LoD établie, 96 réplicats par concentration ont été réalisés. La concentration la plus faible à laquelle au moins 95 % des réplicats étaient positifs a été déterminée comme étant la LoD. La LoD confirmée pour les écouvillons ensemencés avec le virus, séchés et élués dans une matrice d'échantillons négatifs est indiquée dans le **tableau 16**.

Tableau 16. Détermination de la LOD pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete (écouvillon sec)

Organisme	Souche	Concentration à la LoD
SARS-CoV-2	USA-WA1/2020	3,07 x 10^1 $TCID_{50}$/mL

Inclusivité

L'inclusivité du LumiraDx SARS-CoV-2 STAR Complete a été évaluée en testant de faibles concentrations (~3x LoD) de virus (rendu non infectieux) en utilisant chacun 3 réplicats pour plusieurs souches de SARS-CoV-2, y compris des variants importants testés sur un instrument de RT-PCR validé. Un récapitulatif des résultats d'analyse d'inclusivité est présenté dans le **tableau 17**. Le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete a détecté avec succès toutes les souches d'inclusivité aux concentrations testées.

Tableau 17. Inclusivité pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete

Organisme	Souche	Concentration de test	Pourcentage de détection (Pos/Tot)
SARS-CoV-2	Variant B.1,1.7 (Alpha)	3x LoD	100 %
	Variant B.1.351 (bêta)	3x LoD	100 %
	Variant B.1.617.2 (Delta)	3x LoD	100 %
	Variante B.1.1.529 (Omicron)	3x LoD	100 %

Inclusivité (in silico)

Un échantillon d'environ 1 000 000 séquences de la base de données GISAID de SARS-CoV-19 a été extrait au hasard et traité pour la qualité et l'exhaustivité en mai 2022. Des séquences à couverture élevée et pleine longueur ont été utilisées dans l'analyse. Un récapitulatif des résultats de l'analyse d'inclusivité in silico par cible et par variant est présenté dans le **Tableau 18** et le **Tableau 19**. Ces données indiquent que le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete devrait détecter environ 99,82 % de toutes les séquences évaluées au moment de l'analyse.

Tableau 18. Inclusivité in silico du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete par cible

Cible du test	Homologie avec les séquences analysées
Cible 1	> 99 %
Cible 2	> 99 %*
Cible 1, Cible 2 combinées	99,8 %

*Avec une ou plusieurs incohérences

Tableau 19. Inclusivité in silico du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete par variant

Variant	Homologie oligonucléotidique de la cible 1 avec les séquences analysées	Homologie oligonucléotidique de la cible 2 avec les séquences analysées
Omicron (BA.1, BA.2, BA.3, BA.4, BA.5, XE)	> 99 %*	> 99 %
Delta (B.1.617.2)	> 99 %*	> 99 %

*Avec une ou plusieurs incohérences

Spécificité analytique : Exclusivité et réactivité croisée

L'exclusivité et la réactivité croisée du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete ont été évaluées en testant un panel de 43 micro-organismes habituellement présents dans les voies respiratoires supérieures ou qui sont génétiquement similaires au SARS-CoV-2 à des titres élevés, comme indiqué dans le **tableau 20**. Chaque organisme a été dilué dans une matrice d'échantillons négatifs et testé trois fois. Les tests ont été effectués pour chacun des organismes hors panel seuls et en présence de chacun des organismes dans le panel à 3x LOD sur un instrument de RT-PCR validé. Les résultats de cette étude sont présentés dans le **tableau 20**. Aucun des organismes n'a produit de résultats faussement positifs aux concentrations testées et tous les réplicats de chaque cible de SARS-CoV-2 ont été détectés à 3x LOD en présence de taux élevés d'organismes hors panel.

REMARQUE : Les concentrations sont exprimées en $TCID_{50}$ (dose médiane de culture de tissus), UFC (unités formant colonies), CCU (unités de changement de colonies), copies (copies génomiques ou équivalents génomiques) et IFU (unités formant inclusions).

Tableau 20. Exclusivité du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete et réactivité croisée

Organisme hors panel	Souche	Concentration d'organismes hors panel testée	Résultat du test d'organisme hors panel	Résultat d'analyse du SARS-CoV-2
Adénovirus	Type 1	$1,00 \times 10^5$ $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Adénovirus	Type 5	$1,00 \times 10^5$ $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Adénovirus	Type 7	$1,00 \times 10^5$ $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Cytomégalovirus		$2,00 \times 10^4$ $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Entérovirus	Type D68	$6,20 \times 10^4$ $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Virus d'Epstein-Barr		$1,00 \times 10^5$ copies/ml	Non détecté	Détecté
Coronavirus humain	229 E	$1,70 \times 10^4$ $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Coronavirus humain	HKU1	$2,70 \times 10^4$ copies/ml	Non détecté	Détecté
Coronavirus humain	NL63	$5,00 \times 10^3$ $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Coronavirus humain	OC43	$1,00 \times 10^5$ $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Métapneumovirus humain (hMPV)		$1,00 \times 10^5$ $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Grippe A	Denver/1/57	$1,00 \times 10^5$ $TCID_{50}$/mL	Non détecté	Détecté

Grippe B	GL/1739/54	1,00 x 10^5 $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Rougeole		2,00 x 10^4 $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Coronavirus du MERS		2,00 x 10^4 $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Oreillons		1,00 x 10^5 $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Virus parainfluenza	Type 1	6,20 x 10^4 $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Virus parainfluenza	Type 2	7,50 x 10^4 $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Virus parainfluenza	Type 3	1,00 x 10^5 $TCID_{50}$/mL	Non détecté	Détecté
Virus parainfluenza	Type 4a	2,70 x 10^3 $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Virus respiratoire syncytial (VRS)		1,70 x 10^4 $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Rhinovirus	Type 1A	8,00 x 10^3 $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Coronavirus du SRAS		2,60 x 10^4 $TCID_{50}$/ml	Non détecté	Détecté
Bordetella pertussis		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Chlamydia pneumoniae		1,00 x 10^6 UFI/ml	Non détecté	Détecté
Corynebacterium diphtheriae		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Escherichia coli		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Haemophilus influenzae		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Lactobacillus salivarius		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Legionella pneumophila		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Moraxella catarrhalis		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Mycobacterium tuberculosis		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Mycoplasma pneumoniae		1,00 x 10^6 UCC/ml	Non détecté	Détecté
Neisseria gonorrhoeae		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Neisseria meningitidis		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Pneumocystis jirovecii		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Pseudomonas aeruginosa		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Staphylococcus aureus		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Staphylococcus epidermidis		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Streptococcus pneumoniae		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Streptococcus pyogenes		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Streptococcus salivarius		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté
Candida albicans		1,00 x 10^6 UFC/ml	Non détecté	Détecté

Exclusivité (in silico)

L'exclusivité du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete a été évaluée in silico en évaluant des séquences d'agents pathogènes potentiellement présents dans les échantillons respiratoires et/ou présentant des similitudes génétiques avec les organismes cibles. Un récapitulatif des organismes évalués pour l'exclusivité est présenté dans le **tableau 21**. Aucune réactivité croisée n'est prévue sur la base de l'analyse in silico.

Tableau 21. Organismes d'exclusivité in silico pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete

Virus	Bactéries	Eucaryotes
Adénovirus (Type 1)	*Bordetella pertussis*	*Candida albicans*
Adénovirus (Type 5)	*Chlamydia pneumoniae*	Génome humain
Adénovirus (Type 7)	*Corynebacterium diphtheriae*	
Cytomégalovirus	*Escherichia coli*	
Entérovirus D68	*Haemophilus influenzae*	
Virus d'Epstein-Barr	*Lactobacillus salivarius*	
Coronavirus humain (229E)	*Legionella pneumophila*	
Coronavirus humain (HKU1)	*Moraxella catarrhalis*	
Coronavirus humain (NL63)	*Mycobacterium tuberculosis*	
Coronavirus humain (OC43)	*Mycoplasma pneumoniae*	
Métapneumovirus humain (hMPV)	*Neisseria gonorrhoeae*	
Grippe A (H1N1, H3N2)	*Neisseria meningitidis*	
Grippe B (Victoria, Yamagata)	*Pneumocystis jirovecii*	
Rougeole	*Pseudomonas aeruginosa*	
Coronavirus du MERS	*Staphylococcus aureus*	
Oreillons	*Staphylococcus epidermidis*	
Virus parainfluenza (type 1)	*Streptococcus pneumoniae*	
Virus parainfluenza (Type 2)	*Streptococcus pyogenes*	
Virus parainfluenza (Type 3)	*Streptococcus salivarius*	
Virus parainfluenza (type 4a)		
Virus respiratoire syncytial (VRS)		
Rhinovirus (Type 1A)		
Coronavirus du SRAS		

Substance potentiellement interférente

Les substances couramment trouvées dans les échantillons respiratoires, les substances qui pourraient être introduites lors du prélèvement des échantillons et les médicaments couramment utilisés pour traiter la congestion, les allergies ou les symptômes d'asthme qui pourraient potentiellement interférer avec le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete ont été évalués individuellement à des concentrations cliniquement pertinentes contre le SARS-CoV-2 à faible titre (3x LoD) dans une matrice clinique négative sur un instrument de RT-PCR validé. Un récapitulatif des substances testées est présenté dans le **tableau 22**.Aucune inhibition n'a été observée pour l'une quelconque des substances aux concentrations testées.

Tableau 22. Substances pour LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete potentiellement interférentes

Substance potentiellement interférente	Ingrédient actif	Concentration d'analyse
Béclométhasone	Béclométhasone	0,1 mg/ml
Budésonide	Budésonide	0,1 mg/ml
Chloraseptic® Max	Phénol (1,5 %), Glycérine (33 %)	5 % (v/v), ou 0.075 % de phénol, 1,65 % de glycérine
Sirop contre la toux contre le rhume et la grippe	Acétaminophène (325 mg), Dextrométhorphane HBr (10 mg), Guaifénésine (200 mg), Phényléphrine (5 mg) pour 15 ml	5 % (v/v), ou acétaminophène à 1,08 mg/ml, dextrométhorphane à 0,033 mg/mL, guaifénésine à 0,667 mg/ml, phényléphrine à 0,0167 mg/ml
Dexaméthasone	Dexaméthasone	0,1 mg/ml
Flonase	Propionate de fluticasone (50 mcg)	5 % (v/v)
Flunisolide	Flunisolide (0,025 %)	0,1 mg/ml
Furoate de mométasone	Furoate de mométasone	0,1 mg/ml
Mucine, Type I-S (bovin)	Protéine de mucine purifiée	0,25 mg/ml
Mupirocine	Mupirocine	0,1 mg/ml
Nasacort	Acétonide de triamcinolone (55 mcg)	5 % (v/v)
Vaporisateur nasal salin	Chlorure de sodium (0,65 %)	5 % (v/v) ou 0,0325 % de NaCl
Vaporisateur nasal d'oxymétazoline	HCl d'oxymétazoline (0,05 %)	5 % (v/v) ou 0,0025 % de HCl d'oxymétazoline
Vaporisateur nasal de phényléphrine	HCl de phényléphrine (1 %)	5 % (v/v) ou 0,05 % de HCl de phényléphrine

Tobramycine	Tobramycine	0,033 mg/ml
VapoCOOL Vicks®MC (pastille pour la gorge)	Benzocaïne, Menthol	15 mg/ml, 20 mg/ml
Zanamivir	Zanamivir	0,75 mg/ml
Zicam® (gel nasal, antiallergique homéopathique)	Galphimia glauca, Luffa operculata, Sabadilla	5 % (v/v)
Sang total (humain)	s.o.	2,5 % (v/v)

Répétabilité

Pour évaluer la répétabilité du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete, le virus SARS-CoV-2 (rendu non infectieux) a été ensemencé dans une matrice clinique négative à des concentrations positives faibles et modérées (2x et 5x LoD) et testé pendant 6 jours par deux opérateurs avec deux lots de réactifs distincts avec quatre réplicats par condition ainsi que des témoins négatifs sur un instrument de RT-PCR validé. 100 % des réplicats étaient en accord avec le résultat attendu démontrant la répétabilité du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete. Un récapitulatif des conditions de test de répétabilité est présenté dans le **tableau 23**.

Tableau 23. Conditions de répétabilité du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete

Condition	Répliques négatives	2x répliques LoD	5x répliques LoD
Jours	6	6	6
Lots de réactifs	2	2	2
Opérateurs	2	2	2
Réplicats/Condition	4	4	4
Totaux	**96**	**96**	**96**

Reproductibilité

Pour évaluer la reproductibilité du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete, le virus SARS-CoV-2 (rendu non infectieux) a été dopé dans une matrice clinique négative à des concentrations positives faibles et modérées (2x et 5x LoD) et testé pendant 6 jours par deux opérateurs sur trois sites distincts avec trois réplicats par condition ainsi que des témoins négatifs à l'aide d'un instrument de RT-PCR validé. 100 % des réplicats étaient en accord avec le résultat attendu, ce qui démontre la reproductibilité du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete. Un récapitulatif des conditions de test de reproductibilité est présenté dans le **tableau 24**.

Tableau 24. Conditions de reproductibilité du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete

Condition	Réplicats négatifs	Réplicats à 2x LoD	Réplicats à 5x LoD
Nombre de sites	3	3	3
Jours	6	6	6
Opérateurs	2	2	2
Réplicats/Condition	3	3	3
Totaux	**108**	**108**	**108**

Étude clinique

Pour démontrer les pourcentages de concordance positive et négative du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete par rapport à un test de RT-PCR (comparateur) hautement sensible marqué CE, 378 échantillons d'écouvillonnage naso-pharyngé ont été préparés et testés dans une étude en aveugle pour les deux dosages. Les pourcentages de concordance positive et négative entre le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete et le test de comparaison sont récapitulés dans le **Tableau 25**.

Tableau 25. Pourcentages de concordance positive et négative du LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete

		Comparateur		
		Positive	Négative	Total
LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete	Positive	167	0	167
	Négative	4*	207	211
	Total	171	207	378
Pourcentage de concordance		97,7 % (positive)	100 % (négative)	
Intervalle de confiance à 95 %		94,1 à 99,4 %	98,2 à 100 %	

*Parmi les quatre échantillons faussement négatifs, tous ont été testés sur un test de RT-PCR supplémentaire marqué CE, l'un a été négatif et trois ont été positifs pour le SARS-CoV-2.

Études d'équivalence

Équivalence du milieu de transport

Une étude d'équivalence de matrice d'échantillons a été réalisée pour démontrer l'équivalence entre quatre milieux de transport. Plusieurs milieux de transport ont été ensemencés avec le virus inactivé par la chaleur à 1x LoD (un minimum de 20 réplicats) et analysés sur un instrument de RT-PCR validé. La détection de ≥ 95 % d'échantillons positifs à 1x LoD et la détection de 100 % d'IC dans les échantillons négatifs sans résultats faussement positifs ont été nécessaires pour déterminer l'équivalence pour chacun des milieux testés. Un récapitulatif des milieux testés et jugés équivalents est présenté dans le **tableau 26**.

Tableau 26. Équivalence des milieux pour le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR

Médias équivalents
PBS 1X, pH 7,4
Solution saline (0,85 %)
Solution saline (0,90 %)
Milieu de transport*

* Milieu de transport Corning ou milieu de formulation similaire

Équivalence des instruments (96 puits)

Une étude d'équivalence des instruments a été réalisée pour vérifier les performances équivalentes entre trois instruments à 96 puits par rapport à l'instrument Bio-Rad Opus à 96 puits sur lequel les études de performances analytiques ont été exécutées. 20 réplicats du virus SARS-CoV-2 inactivés par la chaleur ont été testées dans une matrice d'échantillons négatifs pour vérifier la LoD de chaque instrument. Tous les instruments testés ont démontré une détection ≥ 95 % à la LoD et une détection de 0 % des échantillons négatifs avec le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete. Un récapitulatif des instruments équivalents est présenté dans le **tableau 27**.

Tableau 27. Équivalence à l'instrument LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR96 puits

Instrument	Fabricant
CFX Opus	Bio-Rad
QuantStudio5 (96 puits)	Applied Biosystems
QuantStudio 7 Flex (96 puits)	Applied Biosystems
qTOWER³ (96 puits)	Analytik Jena

11. Coordonnées de contact, commandes et assistance produit

Pour commander, contacter LumiraDx à :
Site Internet : www.LumiraDx.com.
E-mail (États-Unis) : CustomerServices.US@LumiraDx.com.
E-mail (international) : CustomerServices@LumiraDx.com.

Pour de plus amples informations sur le produit, contacter LumiraDx à :
E-mail : .CustomerServices.US@LumiraDx.com Inclure « LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete » dans la ligne d'objet.
Téléphone : 1-888-586-4721.

Pour le support technique, contacter LumiraDx à :
E-mail : TechnicalServices@LumiraDx.com.Inclure « LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete » dans la ligne d'objet.

Pour la politique de retour, contacter LumiraDx à :
En cas de problème avec le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete, il peut vous être demandé de renvoyer l'article. Avant de renvoyer les tests, veuillez obtenir un numéro d'autorisation de retour auprès du service clients LumiraDx (CustomerServices.US@LumiraDx.com). Ce numéro d'autorisation de retour doit figurer sur le carton d'expédition pour retour. Pour les retours ordinaires après achat, veuillez contacter le service clients LumiraDx pour connaître les modalités et les conditions.

Propriété intellectuelle
Le test LumiraDx et toute la documentation LumiraDx fournie (« Produits ») sont protégés par la loi. La propriété intellectuelle des produits LumiraDx reste celle de LumiraDx. Les détails de la propriété intellectuelle pertinente concernant nos produits sont disponibles sur LumiraDx.com/IP.

Mentions légales
Copyright © 2022 LumiraDx et affiliés. Tous droits réservés. LumiraDx et le logo LumiraDx Flame sont des marques déposées de LumiraDx International LTD. Tous les détails de ces enregistrements et d'autres enregistrements de LumiraDx sont disponibles sur LumiraDx.com/IP. Toutes les autres marques déposées sont la propriété de leurs propriétaires respectifs.

Garantie limitée
LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete – Selon la durée de conservation.

Les réactifs doivent être stockés conformément aux conditions de stockage requises telles qu'imprimées dans ce mode d'emploi et ils ne peuvent être utilisés que jusqu'à la date de péremption imprimée sur la boîte du kit. Pour la période de garantie applicable, LumiraDx garantit que chaque produit sera (i) de bonne qualité et exempt de défauts matériels, (ii) fonctionnera conformément aux spécifications matérielles référencées dans la notice du produit, et (iii) approuvé par les agences gouvernementales compétentes requises pour la vente de produits pour l'usage auquel ils sont destinés (la « garantie limitée »). Si le produit ne répond pas aux exigences de la garantie limitée, LumiraDx, en tant que seul recours du client, réparera ou remplacera, à la discrétion de LumiraDx. À l'exception de la garantie limitée figurant dans cette section, LumiraDx décline toute garantie, expresse ou implicite, y compris, mais sans s'y limiter, toute garantie de qualité marchande, d'adéquation à un usage particulier et d'absence de contrefaçon concernant le produit. La responsabilité maximale de LumiraDx pour toute réclamation du client ne doit pas dépasser le prix net du produit payé par le client. Aucune des parties ne sera responsable envers l'autre partie des dommages spéciaux, accessoires ou consécutifs, y compris, sans s'y limiter, la perte d'activité, de bénéfices, de données ou de revenus, même si une partie est avertie à l'avance que ces types de dommages pourraient en résulter. La garantie limitée ci-dessus ne s'applique pas si le client a soumis le kit LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete à des mauvais traitements physiques, une mauvaise utilisation, une utilisation anormale, une utilisation non conforme au mode d'emploi LumiraDx, une fraude, une altération, un stress physique inhabituel, une négligence ou des accidents. Toute demande de garantie par le client conformément à la garantie limitée doit être faite par écrit pendant la période de garantie limitée applicable.

12. Glossaire des symboles

	Limitation de température		Date limite d'utilisation – Date après laquelle le réactif non ouvert ne peut plus être utilisé.
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro	Σ n	Contient suffisamment de réactif pour 'n' réactions
REF	Numéro de référence catalogue		Consulter www.lumiradx.compour la version électronique du mode d'emploi.
LOT	Numéro de lot/code de lot		Fabricant
CONTROL −	Milieux témoins négatifs	CE	Marquage CE de conformité
CONTROL +	Milieux témoins positifs	EC REP	Représentant agréé dans la Communauté européenne
	L'emballage à contenu recyclé non contaminé, la boîte du kit et le mode d'emploi sont recyclables s'ils peuvent être collectés, séparés ou sinon récupérés à partir du flux de déchets via un programme de recyclage établi.		Importateur européen

	LumiraDx UK Ltd. Building 115, Bedford Technology Park, Thurleigh, Bedford MK44 2YA, Royaume-Uni Numéro d'entreprise britannique 09206123
EC REP	LumiraDx AB Västra Vägen 5A16961 Solna, Suède
	LumiraDx BV Looskade 20 6041 LE Roermond, Pays-Bas
Fabriqué aux États-Unis	LumiraDx 6650 Nancy Ridge Drive, San Diego, Californie 92121, États-Unis

13. Annexe A : Instructions détaillées pour la configuration d'instrument (format à 96 puits)

Cette annexe est destinée à aider l'utilisateur à programmer certains instruments pouvant être utilisésavec le LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete.

13a. Configuration d'instrument pour l'instrument Applied BiosystemsMC QuantStudio 5 (format à 96 puits)

Se reporter au numéro de pièce MAN0010407 du manuel d'utilisation pour de plus amples informations. Les instructions de programmation d'instrument sont destinées à la configuration d'une plaque à 96 puits complète.

13a.1 Instructions de programmation pour un instrument relié à un PC/ordinateur portable

Il est recommandé de configurer l'instrument jusqu'à l'étape 12 ci-dessous avant de préparer le Reagent Mix comme défini dans **la section 8.3 Préparation du réactif qSTAR et configuration de la plaque**. La plaque à 96 puits doit être récemment centrifugée pour garantir que tous les réactifs se trouvent au fond de la plaque et sont conservés sur un bloc froid. Utiliser uniquement des plaques à 96 puits et des joints compatibles avec le fabricant de l'instrument.

REMARQUE : Si l'écran tactile de l'instrument est en mode veille (écran sombre), toucher l'écran n'importe où pour activer l'instrument. Le mode veille abaisse la température du couvercle chauffé. Il est important que le couvercle chauffé tourne à 105°C avant le chargement d'une plaque.

1. Lancer le logiciel de bureau 'QuantStudio Design & Analysis' (version v1,5.1)
2. Sélectionner 'Create New Experiment' ('Créer une nouvelle expérience'). Une fenêtre s'ouvrira avec l'onglet 'Properties' ('Propriétés') sélectionné.
3. Saisir les paramètres 'Experiment Properties' ('Propriétés de l'expérience') comme suit :
   a. Nommer l'expérience 'Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Template' ('Modèle Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete')
   b. Définir le paramètre 'Instrument type' ('Type d'instrument') sur 'QuantStudio 5 System' ('Système QuantStudio 5')
   c. Définir le paramètre 'Block type' ('Type de bloc') sur '96-Well 0.2mL Block' ('Bloc de 0,2 ml à 96 puits')
   d. Régler le paramètre 'Experiment type' ('Type d'expérience') sur 'Standard Curve' ('Courbe standard')
   e. Régler le paramètre 'Chemistry' ('Chimie') sur 'Other' ('Autre')
   f. Régler le paramètre 'Run mode' ('Mode d'exécution') sur 'Standard'
4. Passer à l'onglet 'Method' ('Méthode').
   a. Cliquer sur 'Action'
   b. Sélectionner 'Optical filter settings' ('Paramètres du filtre optique') dans le menu déroulant.
   c. Dans le tableau 'PCR Filter' ('Filtre PCR'), décocher toutes les combinaisons de filtres à l'exception des suivantes :
      - x1(470±15), m1(520±15) FAM
      - x4(580±10), m4(623±14) ROX
      - x5(640±10), m5(682±14) Cy5/Mustang Purple
   d. Cliquer sur 'Close' ('Fermer') pour revenir à l'onglet 'Method' ('Méthode').
   e. Régler le 'Volume' sur '60 µl'.
5. Dans la section 'Hold Stage' ('Étape de maintien'), modifier les paramètres 'Step 1' ('Étape 1') comme suit :
   a. Régler la vitesse de montée sur '2°C/s'
   b. Régler la température sur '30°C'
   c. Régler le temps sur '01:00'
6. Dans la section 'Hold Stage' ('Étape de maintien'), modifier les paramètres 'Step 2' ('Étape 2') comme suit :
   d. Régler la vitesse de montée sur '2°C/s'
   e. Régler la température sur '51°C'
   f. Régler le temps sur '03:00'
7. Dans la section 'PCR Stage' ('Étape de PCR), modifier les paramètres 'Step 1' ('Étape 1') comme suit :
   a. Régler la vitesse de montée sur '2°C/s'
   b. Régler la température sur '51°C'
   c. Régler le temps sur '00:25'
   d. Fixer la collecte de données pour cette étape en vous assurant que l'icône de la caméra est active (non grisée)
8. Dans la section 'PCR Stage' ('Étape de PCR'), modifier les paramètres 'Step 2' ('Étape 2') comme suit :
   a. Régler la vitesse de montée sur '2°C/s'
   b. Régler la température sur '61°C'

   c. Régler le temps sur '00:01'
9. Au bas de la section 'PCR Stage' ('Étape de PCR'), régler 'Cycles' sur '20'.
10. Passer à l'onglet 'Plate' ('Plaque').
   a. Remplacer 'Passive Reference' ('Référence passive') par 'None' ('Aucun') dans la fenêtre 'Plate Attributes' ('Attributs de la plaque').
   b. Sélectionner tous les puits de la disposition de plaque.
11. Passer à l'onglet 'Advanced Setup' ('Configuration avancée') pour configurer les cibles et les témoins.
   COVID Target 1
   a. Dans la section 'Targets' ('Cibles'), renommer 'Target 1' ('Cible 1') en '**COVID Target 1**' ('Cible 1 relative à la COVID').
   b. Changer la couleur par défaut en bleu.
   c. Sélectionner '**FAM**' comme 'Reporter' (le 'Quencher' ('Extincteur') est automatiquement saisi sous le nom 'NFQ-MGB').
   d. Cocher la case vide à gauche de la case colorée pour l'appliquer aux puits.
   COVID Target 2
   a. Ajouter une deuxième cible puis renommer en '**COVID Target 2**' ('Cible 2 relative à la COVID')
   b. Changer la couleur par défaut en violet
   c. Sélectionner '**Mustang Purple**' en tant que 'Reporter' (le 'Quencher' ('Extincteur') est automatiquement saisi sous le nom 'NFQ-MGB')
   d. Cocher la case vide à gauche de la case colorée pour l'appliquer aux puits.
   Internal Control
   a. Ajouter une troisième cible puis renommer en '**IC**'
   b. Changer la couleur par défaut en rouge
   c. Sélectionner '**ROX**' en tant que 'Reporter' (le 'Quencher' ('Extincteur') est automatiquement saisi sous le nom 'NFQ-MGB')
   d. Cocher la case vide à gauche de la case colorée pour l'appliquer aux puits.
   En option : Dans la section 'Samples' ('Échantillons'), le paramètre 'Sample Name' ('Nom de l'échantillon') peut être ajouté individuellement ou collé dans la disposition de plaque à 96 puits à partir d'un fichier Excel.
12. Passer à l'onglet 'Run' ('Exécuter').
   a. Enregistrer l'expérience en tant que modèle pour les analyses ultérieures en cliquant sur la flèche vers le bas 'Save' ('Enregistrer') et en sélectionnant l'option 'Save As' ('Enregistrer sous').
   b. Nommer le modèle « Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete CE Template » et cliquer sur 'Save' ('enregistrer').
13. Charger la plaque comme suit :
   a. Appuyer sur l'icône 'eject' ('éjecter') sur l'écran tactile de l'instrument QuantStudio 5 en haut à droite de la fenêtre.
   b. Placer la plaque d'échantillon sur le bloc d'amplification. D'assurer d'aligner A1 sur la plaque à 96 puits avec la position A1 définie sur le tiroir d'instrument.
   c. Appuyer sur l'icône 'eject' ('ejecter') sur l'écran tactile de l'instrument pour fermer le tiroir.
14. Revenir à l'onglet 'Run' ('Exécuter') du logiciel de bureau et cliquer sur le bouton 'START RUN' ('DÉMARRER L'EXÉCUTION'). Lorsque la connexion de l'instrument est établie, le numéro de l'instrument apparaît dans un menu déroulant sous le bouton 'START RUN' ('DÉMARRER L'EXÉCUTION').
15. Sélectionner le numéro d'instrument pour lancer l'analyse.
16. Remplacer le paramètre 'File Name' ('Nom de fichier') par « LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete [YYMMDD_Plate#] » (« LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete [AAMMJJ_Plaque n°] ») et cliquer sur 'Save' ('Enregistrer').
17. Après l'analyse, l'écran tactile de l'instrument indique quand l'analyse est 'Complete' ('Terminée'). Fermer l'écran de l'analyse en appuyant sur 'Done' ('Effectué').
18. Retirer la plaque et la jeter dans un sac ou un conteneur à déchets refermable.
   REMARQUE : Les puits contenant le PCM ainsi que ceux qui ont été positifs pour une cible contiendront des taux élevés d'amplicon qui peuvent entraîner des résultats faussement positifs dans les tests futurs s'ils sont autorisés dans l'environnement du laboratoire. Ne jamais retirer le sceau optique de la plaque après l'amplification.

13a.2 Consignes d'analyse

1. Modifier les paramètres d'analyse à l'aide de l'onglet 'Results' ('Résultats') dans le logiciel de bureau 'QuantStudio Design & Analysis' (version v1.5.1).
2. Sélectionner les puits souhaités pour l'analyse dans la disposition de plaque, puis cliquer sur le symbole de l'œil au-dessus du paramètre 'Amplification Plot' ('Tracé d'amplification') pour configurer le tracé comme suit :
   a. Régler le paramètre 'Plot Type' ('Type de tracé') sur 'ΔRn vs Cycle'
   b. Régler le paramètre 'Graph Type' ('Type de graphique') sur 'Log' ('Registre')
   c. Régler le paramètre 'Plot Color' ('Couleur du tracé') sur 'Target' ('Cible')
   d. Cliquer en dehors de la fenêtre pour accepter les modifications (tous les autres contenus restent inchangés)
3. Cliquer sur l'icône 'Gear' ('Adapter') à droite du bouton 'Analyze' ('Analyser') en haut à gauche du logiciel pour ouvrir

la fenêtre 'Analysis Settings' ('Paramètres d'analyse').

COVID Target 1

a. Dans l'onglet 'Ct settings' ('Paramètres de Ct'), décocher la case 'Default settings' ('Paramètres par défaut') sous la section 'Ct settings for COVID Target 1' ('Paramètres de Ct pour la cible 1 relative à la COVID').
b. Décocher la case 'Automatic Threshold' ('Seuil automatique')
c. Décocher la case Automatic Baseline' ('Base automatique')
d. Saisir « 100 000 » pour le paramètre 'Threshold' ('Seuil')
e. Régler le paramètre 'Baseline Start Cycle' ('Cycle de démarrage de base') sur '1'
f. Régler le paramètre 'End Cycle' ('Fin de cycle') sur '2'
g. Cliquer sur 'Apply' ('Appliquer')

COVID Target 2

a. Dans l'onglet 'Ct settings', décocher la case 'Default settings' ('Paramètres par défaut') sous la section 'Ct settings for COVID Target 2' ('Paramètres Ct pour la cible 2 relative à la COVID').
b. Décocher la case 'Automatic Threshold' ('Seuil automatique')
c. Décocher la case Automatic Baseline' ('Base automatique')
d. Saisir « 100 000 » pour le paramètre 'Threshold' ('Seuil')
e. Régler le paramètre 'Baseline Start Cycle' ('Cycle de démarrage de base') sur '1'
f. Régler le paramètre 'End Cycle' ('Fin de cycle') sur '2'
g. Cliquer sur 'Apply' ('Appliquer')

Internal Control

a. Sélectionner la ligne 'IC'
b. Décocher la case 'Default settings' ('Paramètres par défaut')
c. Décocher la case 'Automatic Threshold' ('Seuil automatique')
d. Décocher la case 'Automatic Baseline' ('Base automatique') .
e. Saisir « 100 000 » pour le paramètre 'Threshold' ('Seuil')
f. Régler le paramètre 'Baseline Start Cycle' ('Cycle de démarrage de base') sur '1'
g. Régler le paramètre 'End Cycle' ('Fin de cycle') sur '2'.
h. Cliquer sur 'Apply' ('Appliquer').

4. Passer à l'onglet 'Export' ('Exporter') pour définir le paramètre 'File Name' ('Nom de fichier') pour le fichier exporté (« Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete [YYMMDD_Plate#] »).
5. Définir le paramètre 'File name' ('Nom de fichier')
   a. Choisir le paramètre 'File Type' ('Type de fichier') (par défaut, QuantStudio est un fichier .xlsx)
   b. Choisir le paramètre 'Location' ('Emplacement') pour exporter le fichier
   c. Choisir le paramètre 'Content' ('Contenu') à exporter (la case 'Results' ('Résultats') doit être cochée pour les valeurs de Ct).
   d. Cliquer sur 'Customize' ('Personnaliser') pour passer à ce qui doit être exporté dans chaque élément de contenu.
6. Aller dans l'onglet 'Results' ('Résultats')
   a. Cocher la case 'All Fields' ('Tous les champs') pour décocher tout le contenu
   b. Cocher les cases du contenu suivant :
      - 'Well' ('Puits')
      - 'Well Position' ('Position de puits)
      - 'Sample Name' ('Nom de l'échantillon')
      - 'Target Name' ('Nom de la cible')
      - 'Reporter'
      - 'CT'
      - 'Ct Threshold' ('Seuil de Ct')
      - 'Baseline Start' ('Démarrage de base')
      - 'Baseline End' ('Fin de base')
   c. Cliquer sur 'Close' ('Fermer') pour revenir à l'écran de l'onglet 'Export' ('Exporter').
7. Cliquer sur 'Save' ('Enregistrer') pour enregistrer les paramètres modifiés.
8. Cliquer sur le bouton 'Export' ('Exporter') pour générer le fichier de données d'exportation. Le fichier exporté comprendra une section 'Results' ('Résultats') qui contient les valeurs Ct des échantillons.
9. Fermer le logiciel.

13b. Configuration d'instrument pour l'instrument Applied Biosystems QuantStudio 7 Flex (format à 96 puits)

Se reporter au numéro de pièce 4489821 du manuel d'utilisation pour de plus amples informations. Les instructions de programmation d'instrument sont destinées à la configuration d'une plaque à 96 puits complète.

13b.1 Instructions de programmation pour un instrument connecté à un PC/ordinateur portable

Il est recommandé de configurer l'instrument jusqu'à l'étape 18 ci-dessous avant de préparer le Reagent Mix comme défini dans **la section 8.3 Préparation du réactif qSTAR et configuration de la plaque**. La plaque à 96 puits doit être récemment centrifugée pour garantir que tous les réactifs se trouvent au fond de la plaque et sont conservés sur un bloc froid. Utiliser uniquement des plaques à 96 puits et des joints compatibles avec le fabricant de l'instrument.

REMARQUE : Si l'écran tactile de l'instrument est en mode veille (écran sombre), toucher l'écran n'importe où pour activer l'instrument. Le mode veille abaisse la température du couvercle chauffé. Il est important que le couvercle chauffé tourne à 105°C avant de charger une plaque.

1. Lancer le logiciel de bureau 'QuantStudio Real-Time PCR Software' ('Logiciel QuantStudio Real-Time PCR') (version v1.3).
2. Dans la barre d'outils, sélectionner 'Tools' ('Outils') puis 'Preferences' pour ouvrir l'onglet 'Defaults' ('Par défaut')
3. Confirmer que le 'Instrument Type' ('type d'instrument') est réglé sur 'QuantStudio™ 7 Flex System' ('Système QuantStudio MC 7 Flex')
4. Confirmer que le 'Block Type:' ('Type de bloc :') est réglé sur '96-Well Block (0.2mL)' ('Bloc à 96 puits (0,2 ml)')
5. Confirmer que 'Decimal Places to Show :' ('Afficher les décimales comme suit :') est réglé sur '3'.
6. Cliquer sur la case à côté de 'Show optical filters for run method' ('Afficher les filtres optiques pour la méthode d'exécution') et cliquer sur 'OK'.
7. Sélectionner 'Create New Experiment' ('Créer une nouvelle expérience'). Une fenêtre s'ouvrira avec l'onglet 'Properties' ('Propriétés') sélectionné.
8. Saisir le paramètre 'Experiment Properties' ('Propriétés de l'expérience') comme suit :
   a. Nommer l'expérience « Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Template »
   b. Régler le type d'instrument sur 'QuantStudio™ 7 Flex System' ('Système QuantStudio MC 7 Flex')
   c. Régler le paramètre 'Block type' ('Type de bloc') sur '96-Well (0.2mL) Block' ('9Bloc de 0,2 ml à 96 puits')
   d. Régler le paramètre 'Experiment type' ('Type d'expérience') sur 'Standard Curve' ('Courbe standard')
   e. Définir les réactifs utilisés pour détecter les séquences cibles comme 'Other' ('Autre')
   f. Définir les propriétés de l'exécution de l'instrument sur 'Standard'
9. Passer à l'onglet 'Define' ('Définir') sous la section 'Targets' ('Cibles').

   COVID Target 1
   a. Dans la section 'Targets' ('Cibles'), renommer 'Target 1' ('Cible 1') en « **COVID Target 1** »
   b. Sélectionner **'FAM'** en tant que reporter
   c. Changer le paramètre 'color' ('Couleur') en bleu
   d. Confirmer que le 'Quencher' ('Extincteur') est automatiquement saisi sous le nom 'NFQ-MGB'.

   COVID Target 2
   a. Ajouter une deuxième cible en cliquant sur 'New' ('Nouveau') (juste au-dessus du paramètre 'Target Name') puis renommer en '**COVID Target 2**' ('Cible 2 de la COVID')
   b. Sélectionner **'Cy5' ou 'Mustang Purple'** en tant que reporter
   c. Changer la couleur par défaut en violet
   e. Confirmer que le 'Quencher' ('Extincteur') est automatiquement saisi sous le nom 'NFQ-MGB'.

   Internal Control
   a. Ajouter une troisième cible puis renommer en '**IC**'
   b. Sélectionner '**ROX**' comme reporter
   c. Changer la couleur par défaut en rouge
   d. Confirmer que le 'Quencher' ('Extincteur') est automatiquement saisi sous le nom 'NFQ-MGB'.

   Colorant de référence passif :
   a. Utiliser le menu déroulant dans la section 'Passive Reference' ('Référence passive') pour changer le colorant de référence passif en 'None' ('Aucun')

   En option :
   a. Dans la section 'Samples' ('Échantillons'), le paramètre 'Sample Name' ('Nom d'échantillon') peut être ajouté individuellement.
10. Passer à l'onglet 'Assign' ('Attribuer').
    a. Sélectionner tous les puits de la disposition de plaque en cliquant sur la case entre 'A' et '1'.
    b. Sur la gauche de l'écran dans la section 'Targets' ('Cibles'), cocher les cases à côté de 'COVID Target 1' ('Cible 1 de la COVID'), 'COVID Target 2' ('Cible 2 de la COVID) et 'IC' pour appliquer ces cibles aux puits.
    c. Si des échantillons ont été définis pour chaque puits, sélectionner des puits individuels et cocher la case à côté du paramètre 'Name' ('Nom') approprié dans la section 'Samples' (Échantillons').

11. Passer à l'onglet 'Run Method' ('Méthode d'exécution').
    a. Dans la section 'Run Method' ('Méthode d'exécution'), définir le paramètre 'Reaction Volume per Well' ('Volume de réaction par puits') sur « 60 » (µl).
12. Modifier les paramètres 'Hold Stage' ('Étape de maintien') 'Step 1' (Étape 1') comme suit :
    a. Régler la vitesse de montée sur '1,946°C/s'
    b. Régler la température sur '30,0°C'
    c. Régler le temps sur '01:00'.
13. Modifier les paramètres 'Hold Stage' ('Étape de maintien') 'Step 2' ('Étape 2') comme suit :
    d. Régler la vitesse de montée sur '1,946°C/s'
    e. Régler la température sur '51,0°C'
    f. Régler le temps sur '03:00'.
14. Modifier le paramètre 'Step 1' ('Étape 1') dans la section 'PCR Stage' ('Étape PCR') comme suit :
    a. Régler la vitesse de montée (moyenne) sur '**1,645°**C/s'
    b. Régler la température (moyenne supérieure) sur '52°C'
    c. Régler le temps (moyenne inférieure) sur '00:25'.
15. Changer le paramètre 'Step 2' ('Étape 2') dans la section 'PCR Stage' ('Étape PCR') comme suit :
    a. Régler la vitesse de montée (à gauche) sur'1,946°C/s'
    b. Régler la température (en haut à droite) sur '61°C'
    c. Régler le temps (en bas à droite) sur '00:01'
16. Le paramètre 'Step 1' ('Étape 1') dans la section 'PCR Stage' ('Étape PCR') est l'étape de collecte des données. En haut de la section 'PCR Stage' ('Étape PCR'), régler le paramètre 'Number of Cycles' ('Nombre de cycles') sur '20'.
17. Près du haut du filet de la fenêtre, dans l'onglet 'Graphical View' ('Vue graphique'), sélectionner 'Optical Filters' ('Filtres optiques'). Juste en dessous dans la section 'PCR Filter' ('Filtre PCR'), décocher toutes les combinaisons 'Emission Filter' ('Filtre d'émission') à l'exception des suivantes :
    - x1(470±15), m1(520±15) FAM
    - x4(580±10), m4(623±14) ROX
    - x5(640±10), m5(682±14) Cy5/Mustang Purple
18. Enregistrer l'expérience en tant que modèle pour les analyses suivantes comme suit :
    a. Cliquer sur le menu déroulant 'Save' ('Enregistrer') et sélectionner 'Save As Template' ('Enregistrer en tant que modèle').
    b. Nommer le modèle « Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Template » et cliquer sur 'Save' ('Enregistrer'). L'expérience doit être enregistrée à nouveau pour se connecter à l'instrument.
    c. Cliquer sur le menu déroulant à côté de 'Save' ('Enregistrer') et sélectionner 'Save As' ('Enregistrer Sous').
    d. Enregistrer le paramètre 'File Name' ('Nom de Fichier') sous « LumiraDx Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete [YYMMDD_Plate#] » et cliquer sur 'Save' ('Enregistrer').
19. Charger la plaque comme suit :
    a. Appuyer sur l'icône 'Arrow' ('Flèche') rouge sur l'écran tactile de l'instrument QuantStudio 7 Flex en bas à droite de la fenêtre.
    b. Placer la plaque d'échantillon sur le bloc d'amplification qui sort automatiquement. S'assurer d'aligner A1 sur la plaque à 96 puits avec la position A1 définie sur le tiroir d'instrument.
    c. Appuyer sur l'icône 'Arrow' ('Flèche') rouge sur l'écran tactile de l'instrument pour fermer le tiroir.
20. Commencer l'analyse comme suit :
    a. Revenir à l'onglet 'Run' ('Exécuter') du logiciel de bureau et cliquer sur le bouton 'START RUN' ('DÉMARRER L'EXÉCUTION'). Le numéro d'instrument apparaîtra dans un menu déroulant sous le bouton 'START RUN' ('DÉMARRER L'EXÉCUTION').
    b. Sélectionner le numéro d'instrument pour lancer l'analyse.
    c. Une fenêtre contextuelle peut apparaître indiquant que la vitesse de montée aux étapes 1 et 2 est supérieure au maximum.
       Sélectionner 'Yes' ('Oui') pour continuer.
21. Après l'analyse, l'écran tactile de l'instrument indique quand l'analyse est 'Complete' ('Complétée'). Retirer la plaque et la jeter dans un sac ou un conteneur à déchets refermable.
    REMARQUE : Les puits contenant le PCM ainsi que ceux qui ont été positifs pour une cible contiendront des taux élevés d'amplicon qui peuvent entraîner des résultats faussement positifs dans les tests futurs s'ils sont autorisés dans l'environnement du laboratoire. Ne jamais retirer le sceau optique de la plaque après amplification.

13b.2 Consignes d'analyse

1. Modifier les paramètres d'analyse à l'aide de l'onglet 'Analysis' 'Amplification Plot' ('Analyse' 'Tracé d'amplification') dans le logiciel de bureau 'QuantStudio Real-Time PCR Software' ('Logiciel QuantStudio Real-Time PCR')(version v1.3).

2. Sélectionner les puits souhaités pour l'analyse dans la 'Plate Layout' ('Disposition de plaque')
3. Configurer la fenêtre 'Amplification Plot' ('Tracé d'amplification') sur la gauche comme suit :
    a. Régler le paramètre 'Plot Type' ('Type d'amplification') sur 'ΔRn vs Cycle'
    b. Régler le paramètre 'Graph Type' ('Type de graphique') sur 'Log' ('Registre')
    c. Régler le paramètre 'Plot Color' ('Couleur du tracé') sur 'Target' ('Cible')
4. En haut à droite du logiciel à droite du bouton 'Analyze' ('Analyse'), cliquer sur 'Analysis Settings' ('Paramètres de l'Analyse') pour ouvrir la fenêtre 'Analysis Settings' ('Paramètres de l'Analyse').

COVID Target 1

    a. Dans l'onglet 'Ct settings' ('Paramètres de Ct')dans la fenêtre en bas à droite pour 'CT Settings for COVID Target 1' ('Paramètres de Ct pour la Cible 1 de la COVID'), décocher la case 'CT Settings to Use' ('Paramètres de CT à utiliser') à côté de 'Default Settings' ('Paramètres par défaut'). (Cela fera basculer les cases 'Automatic Threshold' ('Seuil automatique') et 'Automatic Baseline' ('Base automatique') à cocher).
    b. Décocher la case à gauche de 'Automatic Threshold' ('Seuil automatique')
    c. Décocher la case à gauche de 'Automatic Baseline' ('Base automatique')
    d. Définir le paramètre 'Threshold' ('Seuil') comme « 500 000 »
    e. Régler le paramètre 'Baseline Start Cycle' ('Cycle de démarrage de base') sur '1'
    f. Régler le paramètre 'End Cycle' ('Fin de cycle') sur '2'.

COVID Target 2

    a. Dans l'onglet 'Ct settings' ('Paramètres de Ct') dans la fenêtre en bas à droite pour 'CT Settings for COVID Target 2' ('Paramètres de Ct pour la Cible 2 de la COVID'), décocher la case 'CT Settings to Use' ('Paramètres de Ct à utiliser') à côté de 'Default Settings' ('Paramètres par défaut'). (Cela fera basculer les cases 'Automatic Threshold' ('Seuil automatique') et 'Automatic Baseline' ('Base automatique') à cocher).
    b. Décocher la case à gauche de 'Automatic Threshold' ('Seuil automatique')
    c. Décocher la case à gauche de 'Automatic Baseline' ('Base automatique')
    d. Définir le paramètre 'Threshold' ('Seuil') comme « 250 000 »
    e. Régler le paramètre 'Baseline Start Cycle' ('Cycle de démarrage de base') sur '1'
    f. Régler le paramètre 'End Cycle' ('Fin de cycle') sur '2'.

Internal Control

    a. Dans la fenêtre 'Select a Target' ('Sélectionner une cible') (en bas à gauche), sélectionner le paramètre 'IC'
    b. Dans les paramètres 'CT Settings for IC' ('Paramètres de CT pour IC'), décocher le paramètre 'Default settings' ('Paramètres par défaut')
    c. Dans les paramètres 'CT Settings for IC' ('Paramètres de CT pour IC'), décocher la case 'Automatic Threshold' ('Seuil automatique')
    d. Dans les paramètres 'CT Settings for IC' ('Paramètres de CT pour IC'), décocher le paramètre 'Automatic Baseline' ('Base automatique').
    e. Définir le paramètre 'Threshold' ('Seuil') comme « 500 000 »
    f. Régler le paramètre 'Baseline Start Cycle' ('Cycle de démarrage de base') sur '1'
    g. Régler le paramètre 'End Cycle' ('Fin de cycle') sur '2'.
    h. Au bas de la fenêtre, sélectionner 'Apply Analysis Settings' ('Appliquer les paramètres d'analyse') pour fermer la fenêtre contextuelle 'Analysis Settings' ('Paramètres d'analyse').

5. Sur la gauche de l'écran, passer à l'onglet 'Export' ('Exporter') :
    a. Définir le paramètre 'Export File Name' ('Exporter le Nom du Fichier') comme « Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete[YYMMDD_Plate#] »
    b. Choisir le paramètre 'File Type' ('Type de Fichier') (par défaut, QuantStudio est un fichier .xls)
    c. Choisir le paramètre 'Export File Location' ('Emplacement du fichier d'exportation') pour exporter le fichier
    d. Sélectionner les onglets souhaités sous 'Export File Location' ('Emplacement du fichier d'exportation') pour déterminer quelles données sont exportées.

Remarque : La case à côté de l'onglet 'Results' ('Résultats') doit être cochée pour exporter les valeurs de CT.

6. Dans l'onglet 'Results' ('Résultats'), sélectionner les éléments suivants :
    a. 'Well' ('Puits')
    b. 'Well Position' ('Position de puits)
    c. 'Sample Name' ('Nom de l'échantillon')
    d. 'Target Name' ('Nom de la cible')
    e. 'Reporter'
    f. 'Quencher' ('Extincteur')
    g. 'CT'

h. ‘Ct Threshold’ (‘Seuil de Ct’)
i. ‘Baseline Start‘ (‘Démarrage de base’)
j. ‘Baseline End‘ (‘Fin de base’)
k. Cliquer sur ‘Start Export’ (‘Démarrer l’exportation’) en bas de l’écran pour générer le fichier de données d’exportation. (Le fichier exporté comprendra une section ‘Results’ (‘Résultats’) qui contient les exemples de valeurs de Ct).

7. Cliquer sur ‘Save’ (‘Enregistrer’) pour enregistrer les paramètres modifiés.
8. Fermer le logiciel.

13c. Configuration d’instrument pour l’instrument Bio-Rad CFX OPUS (format à 96 puits)

Se reporter au numéro de pièce 10000119983 du manuel d’utilisation pour de plus amples informations. Les instructions de programmation d’instrument sont destinées à la configuration d’une plaque à 96 puits complète.

13c.1 Instructions de programmation pour un instrument connecté à un PC/ordinateur portable

Il est recommandé de configurer l’instrument jusqu’à l’étape 18 ci-dessous avant de préparer le Reagent Mix comme défini dans **la section 8.3 Préparation du réactif qSTAR et configuration de la plaque**. La plaque à 96 puits doit être récemment centrifugée pour garantir que tous les réactifs se trouvent au fond de la plaque et sont conservés sur un bloc froid. Utiliser uniquement des plaques à 96 puits et des joints compatibles avec le fabricant de l’instrument.

1. Lancer le logiciel ‘Bio-Rad CFX Maestro^{MC}’ (version v2.2). Dans la fenêtre contextuelle ‘Startup Wizard’ (‘Assistant de démarrage’), sélectionner ‘User-defined’ (‘Défini par l’utilisateur’) comme type d’exécution.
2. Dans la fenêtre contextuelle ‘Run Setup’ (‘Exécuter la configuration’), sélectionner Edit Selected…’ (‘Modifier la sélection…’) à droite de la fenêtre sous l’onglet ‘Protocol’ (‘Protocole’) pour commencer la configuration.
3. La fenêtre contextuelle ‘Protocol Editor’ (‘Éditeur de protocole’) s’ouvrira. Régler le paramètre ‘Sample Volume’ (’Volume d’échantillon’) sur « 0 » µl (le volume d’échantillon ne doit pas être supérieur à celui-ci).
4. Régler la température du couvercle comme suit :
   a. Cliquer sur ‘Settings’ (’Paramètres’) dans le menu supérieur, puis sur ‘Lid Settings…’ (‘Paramètres du couvercle…’) dans le menu déroulant.
   b. Remplacer la température définie par l’utilisateur par ‘70’.
   c. Cliquer sur ’OK’
5. Cliquer sur ‘Insert Step’ (‘Insérer une étape’) pour ajouter un total de cinq étapes au protocole.
6. Modifier les étapes ‘1’ à ‘5’ comme suit :
   a. Régler la température de l’étape ‘1’ sur ‘45,0’°C
   b. Régler le temps ‘1’ sur ‘0:00’ (cela règle le temps sur ’Forever’ (‘Définitivement’))
   c. Régler la température de l’étape ‘2’ sur ‘49,5’°C, régler le temps de l’étape ‘2’ sur ‘3:00’
   d. Régler la température de l’étape ‘3’ sur ‘49,0’°C, régler le temps ‘3’ sur ‘0:12’ et ajouter une lecture de plaque en cliquant sur l’icône à gauche.
   e. Régler la température de l’étape ‘4’ sur ‘67,5’°C, régler le temps ‘4’ sur ‘0:01’
   f. Régler l’étape ‘5 GO TO’ (‘5 ALLER JUSQU’À’) sur ‘3’ et ‘26’ x (cela définit que les étapes 3 à 4 seront répétées 25 fois au total).
   g. Sélectionner ‘OK’, puis sélectionner ‘Yes’ (’Oui’) pour enregistrer les modifications apportées au fichier de protocole.
   h. Définir le paramètre ‘File name’ (’Nom de Fichier’) comme « Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Template.prcl » dans le chemin de fichier approprié et sélectionner ‘Save’ (’Enregistrer’).
7. Passer à l’onglet ‘Plate’ (’Plaque’) en sélectionnant le bouton ‘Next’ (’Suivant’) en bas à droite de la fenêtre ‘Protocol Editor’ (’Éditeur de protocole’).
8. Sélectionner ‘Edit Selected…’ (‘Modifier la sélection…’) à droite de la fenêtre.
9. Sélectionner la plaque complète en sélectionnant la case grise entre la position ‘A’ et ‘1’ sur la plaque.
10. S’assurer que le ‘Scan Mode’ (‘Mode de numérisation’) est défini sur le paramètre ‘All Channels’ (‘Tous les canaux’) en utilisant le menu déroulant.
11. Configurer les fluorophores en cliquant sur ’Select Fluorophores…’ (‘Sélectionner des fluorophores…’) tout en haut à droite de la fenêtre.
    a. S’assurer que les seuls fluorophores sélectionnés sont ‘FAM’, ‘ROX’ et ‘Cy5’.
    b. Changer le paramètre ‘Color’ (‘Couleur’) pour ‘FAM’ en bleu.
    c. Changer le paramètre ‘Color’ (‘Couleur’) pour ‘ROX’ en rouge.
    d. Changer le paramètre ‘Color’ (‘Couleur’) pour ‘Cy5’ en violet.
    e. Sélectionner ’OK’ pour fermer la fenêtre contextuelle.
12. Pour définir des cibles, sélectionner ‘Experiment Settings…’ (‘Paramètres d’expérience...’) en bas à droite de la fenêtre pour ouvrir la fenêtre contextuelle ‘Experiment Settings’ (‘Paramètres d’expérience’) et procéder comme

suit :

a. Sous l'onglet 'Targets' ('Cibles'), ajouter une nouvelle cible en définissant 'New' ('Nouveau') comme « COVID Target 1 » et en sélectionnant 'Add' ('Ajouter').
b. Ajouter une deuxième cible et définir 'New' ('Nouveau') comme « COVID Target 2 » et en sélectionnant 'Add' ('Ajouter').
c. Ajouter une troisième cible et définir 'New' ('Nouveau') comme « IC », puis sélectionner 'Add' ('Ajouter').
d. Sous 'Exclude the following sample types from Gene Expression analysis' ('Exclure les types d'échantillons suivants de l'analyse de l'expression génique') au bas de la fenêtre contextuelle, décocher toutes les cases et sélectionner 'OK' pour fermer la fenêtre contextuelle.
e. Sélectionner à nouveau la plaque complète en sélectionnant la case grise entre la position 'A' et '1' sur la plaque et s'assurer que les cases à cocher à gauche de la sélection 'Load' ('Charger') sont cochées pour 'FAM', 'ROX' et 'Cy5'.
f. À l'aide du menu déroulant sous 'Target Name' ('Nom de Cible'), définir le paramètre 'Target Name' ('Nom de Cible') pour '**FAM'** comme 'COVID Target 1' ('Cible 1 de la COVID')
g. Définir le paramètre 'Target Name' ('Nom de Cible') pour '**Cy5**' comme 'COVID Target 2' ('Cible 2 de la COVID').
h. Définir le paramètre 'Target Name' ('Nom de Cible') pour '**ROX**' comme 'IC'.

13. Sélectionner le type de plaque comme suit :
    a. Cliquer sur 'Settings' ('Paramètres') dans la barre de menu 'Plate Editor' ('Éditeur de plaque')
    b. Sélectionner 'Plate Type' ('Type de plaque') dans la liste déroulante.
    c. Sélectionner 'BR White' ('BR Blanc') dans la sous-liste déroulante.
    d. Sélectionner 'OK' et enregistrer les modifications en cliquant sur 'Yes' ('Oui').
14. Définir le paramètre 'File name' ('Nom de Fichier') comme « Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Template.pltd » dans le chemin de fichier approprié et sélectionner 'Save' ('Enregistrer') pour enregistrer le fichier de plaque.
15. La fenêtre contextuelle 'Plate Editor' ('Éditeur de plaque') se ferme et la nouvelle plaque est chargée dans l'onglet 'Plate' ('Plaque') de la fenêtre 'Run Setup' ('Exécuter la configuration'). Passer à l'onglet 'Start Run' ('Exécuter la configuration') en sélectionnant 'Next >>' ('Suivant>>') en bas à droite de la fenêtre.
16. Dans l'onglet 'Start Run' ('Exécuter la configuration'), cliquer sur 'Start Run' ('Exécuter la configuration')
17. Enregistrer l'expérience en définissant le paramètre 'File name' ('Nom de Fichier') comme « Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete [AAMMJJ_Plate#].pcrd » dans le chemin de fichier approprié, puis en sélectionnant 'Save' ('Enregistrer'). Le cycle commencera à s'initialiser et le couvercle commencera à préchauffer.

    REMARQUE : L'analyse restera en pause à l'étape 1 jusqu'à un clic sur le bouton 'Skip Step' ('Ignorer l'étape'). Lorsque la plaque d'échantillon est prête et que le couvercle est préchauffé, passer à l'étape suivante pour ajouter la plaque d'échantillon au bloc d'amplification et commencer l'analyse.

18. Pour charger la plaque, procéder comme suit :
    a. En bas à gauche de l'écran, sélectionner 'Open Lid' ('Ouvrir le couvercle'). Une fenêtre contextuelle peut apparaître indiquant que l'analyse va s'arrêter pour ouvrir le couvercle.
    b. Cliquer sur 'OK' pour continuer. Le couvercle s'ouvrira automatiquement.
    c. Placer la plaque d'échantillon sur le bloc d'amplification
    d. Sélectionner 'Close Lid' ('Fermer le couvercle') pour fermer le couvercle.
    e. Une fois que le couvercle a fini de se fermer, le bouton 'Skip Step' ('Ignorer l'étape') devient disponible.
    f. Sélectionner 'Skip Step' ('Ignorer l'étape') pour lancer l'analyse.
19. Une fois l'analyse terminée, l'instrument deviendra inactif et la fenêtre 'Data Analysis' ('Analyse de données') apparaîtra.
20. Se reporter au logiciel 'Bio-Rad CFX Maestro' (version v2.2) et sélectionner 'Open Lid' ('Ouvrir le couvercle'). Le couvercle s'ouvrira automatiquement.
21. Retirer la plaque et la jeter dans un sac ou un conteneur à déchets refermable. Sélectionner 'Close Lid' ('Fermer le couvercle') pour fermer le couvercle.
    REMARQUE : Les puits contenant le PCM ainsi que ceux qui ont été positifs pour une cible contiendront des taux élevés d'amplicon qui peuvent entraîner des résultats faussement positifs dans les tests futurs s'ils sont autorisés dans l'environnement du laboratoire. Ne jamais retirer le sceau optique de la plaque après amplification.

13c.2 Consignes d'analyse

1. Dans la fenêtre contextuelle 'Data Analysis' ('Analyse des données') sous l'onglet 'Quantification', sélectionner 'Settings' ('Paramètres') dans le menu principal, puis sélectionner 'Baseline Setting' ('Paramètre de base') puis 'Baseline Subtracted Curve Fit' ('Ajustement de la courbe soustraite de base').
2. Modifier les paramètres de référence et de seuil de cycle pour le paramètre **COVID Target 1** en errectuant les étapes suivantes :
    a. Sous les courbes 'Amplification', décocher toutes les cases de fluorophores **sauf** '**FAM'**.
    b. Dans le menu principal, sélectionner 'Settings' ('Paramètres')
    c. Sélectionner 'Baseline Threshold…' ('Seuil de base...') pour ouvrir la fenêtre contextuelle 'Baseline Threshold' ('Seuil de base').

d. Dans la section ‘Baseline Cycles’ (‘Cycles de base’), sélectionner ‘User Defined’ (‘Utilisateur défini’) puis, immédiatement en dessous, cliquer sur le carré entre ‘Well’ (‘Puits’) et ‘1’ pour sélectionner tous les puits.
e. Modifier ‘All Selected Rows: Begin’ (‘Toutes les lignes sélectionnées : Début’) à « 1 » et ‘End:’ à « 2 ».
f. Dans la section ‘Single Threshold’ (‘Seuil unique’), sélectionner ‘User Defined:’ (‘Utilisateur défini :’) et le régler sur « 5 000,00 ».
g. Cliquer sur ‘OK’ pour continuer.

3. Modifier les paramètres de référence et de seuil de cycle pour **COVID Target 2** en effectuant les étapes suivantes :
   a. Sous les courbes ‘Amplification’, décocher toutes les cases de fluorophores **sauf ‘Cy5’**.
   b. Dans le menu principal, sélectionner ‘Settings’ (‘Paramètres’)
   c. Sélectionner ‘Baseline Threshold…’ (‘Seuil de base...’) pour ouvrir la fenêtre contextuelle ‘Baseline Threshold’ (‘Seuil de base’).
   d. Dans la section ‘Baseline Cycles’ (Cycles de base...‘), sélectionner ‘User Defined’ (‘Utilisateur défini’) puis, immédiatement en dessous, cliquer sur le carré entre ‘Well’ (‘Puits’) et ‘1’ pour sélectionner tous les puits.
   e. Modifier ‘All Selected Rows: Begin’ (‘Toutes les lignes sélectionnées : Début’) à « 1 » et ‘End:’ à « 2 ».
   f. Dans la section ‘Single Threshold’ (‘Seuil unique’), sélectionner ‘User Defined:’ (‘Utilisateur défini :’) et le régler sur « 5 000,00 ».
   g. Cliquer sur ‘OK’ pour continuer.
4. Modifier les paramètres de ligne de base et de seuil de cycle pour **IC** en procédant comme suit :
   a. Sous les courbes ‘Amplification’, décocher toutes les cases de fluorophores **sauf ‘ROX’**.
   b. Dans le menu principal, sélectionner ‘Settings’ (‘Paramètres’)
   c. Sélectionner ‘Baseline Threshold…’ (‘Seuil de base...’) pour ouvrir la fenêtre contextuelle ‘Baseline Threshold’ (‘Seuil de base’).
   d. Dans la section ‘Baseline Cycles’ (‘Cycles de base’), sélectionner ‘User Defined’ (‘Utilisateur défini’) puis, immédiatement en dessous, cliquer sur le carré entre ‘Well’ (‘Puits’) et ‘1’ pour sélectionner tous les puits.
   e. Modifier ‘All Selected Rows: Begin’ (‘Toutes les lignes sélectionnées : Début’) à « 1 » et ‘End:’ à « 2 ».
   f. Dans la section ‘Single Threshold’ (‘Seuil unique’), sélectionner ‘User Defined:’ (‘Utilisateur défini :’) et le régler sur « 5 000,00 ».
   g. Cliquer sur ‘OK’ pour continuer.
5. Après avoir défini les paramètres de base et de seuil de cycle pour ‘COVID Target 1’ (‘Cible 1 de la COVID’), ‘COVID Target 2’ (‘Cible 2 de la COVID’) et ‘IC’, cocher les deux cases à gauche de tous les canaux, puis passer à l’onglet Quantification Data’ (‘Données de quantification’).
6. Cliquer avec le bouton droit sur le tableau ‘Results’ et choisir la méthode souhaitée pour exporter les données (par exemple, ‘Export to Excel…’ (‘Exporter vers Excel…’)).
7. Enregistrer le rapport en définissant le paramètre ‘File name’ (‘Nom de Fichier’) comme « Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Cq Results [YYMMDD_Plate#].xlsx » (« Résultats Cq du Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete[AAMMJJ_Plate#].xlsx ») dans le chemin de fichier approprié, puis en sélectionnant ‘Save’ (‘Enregistrer’).
8. Fermer le logiciel. (Si vous y êtes invité, enregistrez les modifications apportées à l’expérience).

13d. Configuration d’instrument pour l’instrument Analytic Jena qTOWER3 (format à 96 puits)

Se reporter au numéro de pièce 10000119983 du manuel d’utilisation pour de plus amples informations. Les instructions de programmation d’instrument sont destinées à la configuration d’une plaque à 96 puits complète.

13d.1 Instructions de programmation pour un instrument connecté à un PC/ordinateur portable

Il est recommandé de configurer l’instrument jusqu’à l’étape 11 ci-dessous avant de préparer le Reagent Mix comme défini dans **la section 8.3 Préparation du réactif qSTAR et configuration de la plaque**. La plaque à 96 puits doit être récemment centrifugée pour garantir que tous les réactifs se trouvent au fond de la plaque et sont conservés sur un bloc froid. Utiliser uniquement des plaques à 96 puits et des joints compatibles avec le fabricant de l’instrument.

1. Lancer le logiciel ‘qPCRsoft’ (version v4.1).
2. Dans la barre d’outils, sélectionner ‘File’ (‘Fichier’) puis ‘New’ (‘Nouveau’). Cela ouvrira l’onglet ‘General’ (‘Général’) de la fenêtre ‘Real time pcr project – Unnamed’ (‘Projet pcr en temps réel-Sans nom’).
3. Dans l’onglet ‘General’ (‘Général’), définir le paramètre ‘Title’ (‘Titre’) comme « Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Template ».
4. Sélectionner l’onglet ‘Thermal Cycler’ (‘Cycleur thermique’) et procéder comme suit :
   a. Confirmer que le champ ’Lid temp. ?°C’ (‘Température de couvercle en °C’) est réglé sur ‘70’
   b. Vérifier que la case ‘Preheat lid’ (‘Préchauffer le couvercle’) est cochée
   c. Dans le menu déroulant ‘Device’ (‘Dispositif’), sélectionner votre instrument (qTOWER^3 ou qTOWER^3 G)
5. Configurer le profil thermique dans le tableau fourni dans le logiciel comme suit : Étape 1 :

a. Confirmer que ‘scan’ (‘analyser’) est vide
b. Régler ‘⍰°C’ sur ‘51’
c. Régler ‘m:s’ sur ‘03:00’
d. Confirmer que ’goto’ (‘aller à’) est défini sur ‘--’
e. Confirmer que ‘loops’ (‘boucles’) est défini sur ‘---’
f. Confirmer que ‘ΔT(°C)’ est réglé sur ‘--.-’
g. Confirmer que ‘Δt(s)’ est réglé sur ‘---’
h. Régler ‘↗(°C/s)’ sur ‘2’

Étape 2 :

a. Régler ‘scan’ (‘analyser’) sur ‘◊’ en cliquant dans la case vide
b. Régle ‘⍰°C’ sur ‘49’
c. Régler ‘m:s’ sur ‘00:10’
d. Confirmer que ’goto’ (‘aller à’) est défini sur ‘--’
e. Confirmer que ‘loops’ (‘boucles’) est défini sur ‘---’
f. Confirmer que ‘ΔT(°C)’ est réglé sur ‘---’
g. Confirmer que ‘Δt(s)’ est réglé sur ‘---’
h. Régler ‘↗(°C/s)’ sur ‘2’

Étape 3 :

a. Confirmer que ‘scan’ (‘analyser’) est vide
b. Régler ‘⍰°C’ sur ‘61’
c. Régler ‘m:s’ sur ‘00:01’
d. Confirmer que ‘goto’ (‘aller à’) est réglé sur ‘2’
e. Confirmer que ‘loops’ (‘boucles’) est réglé sur ‘19’
f. Confirmer que ‘ΔT(°C)’ est réglé sur ‘--.-’
g. Confirmer que ‘Δt(s)’ est réglé sur ‘---’
h. Régler ‘↗(°C/s)’ sur ‘2’

6. Sélectionner l’onglet ‘Scan’ (‘Analyser’) et modifier les paramètres ‘Pos.’ ‘1’ comme suit :
   a. Confirmer que ‘Channel’ (‘Canal’) est réglé sur ‘Blue’ (‘Bleu’)
   b. Confirmer que ‘Dye’ (‘Colorant’) est réglé sur ‘FAM’
   c. Régler ‘Gain’ (’Obtenir’) sur ‘5’
   d. Régler ‘Measurement’ (’Mesure’) sur ‘◊’ en cliquant dans la case vide
   e. Confirmer que ‘Pass. Ref.’ (‘Réf. Pass’) est laissé vide.
7. Modifier les paramètres ‘Pos.’ ‘2’ comme suit :
   a. Confirmer que ‘Channel’ (‘Canal’) est réglé sur ‘Purple’ (‘Violet’)
   b. Confirmer que ‘Dye’ (‘Colorant’) est réglé sur ‘Cy5’
   c. Régler ‘Gain’ (’Obtenir’) sur ‘5’
   d. Régler ‘Measurement’ (’Mesure’) sur ‘◊’ en cliquant dans la case vide
   e. Confirmer que ‘Pass. Ref.’ (‘Réf. Pass’) est laissé vide
8. Changer l’onglet ‘Scan’ (‘Analyser’) et changer les paramètres ‘Pos.’ ‘3’ comme suit :
   a. Confirmer que ‘Channel’ (‘Canal’) est réglé sur ‘Red’ (‘Rouge’)
   b. Confirmer que ‘Dye’ (‘Colorant’) est réglé sur ‘ROX’
   c. Régler ‘Gain’ (’Obtenir’) sur ‘5’
   d. Régler ‘Measurement’ (’Mesure’) sur ‘◊’ en cliquant dans la case vide
   e. Confirmer que ‘Pass. Ref.’ (‘Réf. Pass’) est laissé vide.
   f. Confirmer que ‘Meas. Repeats:’ (‘Répétitions des mesures’) est réglé sur ‘3’
   g. Confirmer que ‘Color compensation’ (‘Compensation des couleurs’) est réglé sur ‘Standard 1’.
   h. Confirmer que ‘Scan region according to layout’ (‘Analyser la région selon la disposition’) est sélectionné.
9. Attribuer des cibles et des fluorophores à l’aide de l’onglet ‘Samples’ (‘Échantillons’) de la disposition de la plaque
   a. Sélectionner l’ensemble des 96 puits
   b. Dans le menu déroulant, changer ‘Sample type:’ (’Type d’échantillon :’) en ’Unknown’ (‘Inconnu’)
   c. Dans le tableau ‘Target:’ (‘Cible :’) sous ‘Gene’
      - Saisir « **COVID Target 1** » dans la case à droite des paramètres ‘**FAM**’ ‘Dye’ (‘Colorant’)
      - Saisir « **COVID Target 2** » dans la case à droite des paramètres ‘**Cy5**’ ‘Dye’ (‘Colorant’)
      - Saisir « **IC** » dans la case à droite des paramètres ‘**ROX**’ ‘Dye’ (‘Colorant’)

d. Cliquer sur l'icône d'exécution pour appliquer les modifications à l'ensemble des 96 échantillons

10. Attribuer les emplacements des témoins positifs et négatifs sur la plaque comme suit :
    a. À partir de la disposition de la plaque, sélectionner la position '**A1**', changer le paramètre 'Sample type:' ('Type d'échantillon :') en '**Negative Control**' ('Témoin négatif')
    b. Dans le menu déroulant, saisir « **NCM** » dans la case vide à côté de 'Sample name:' ('Nom d'échantillon :')
    c. Cliquer sur l'icône d'exécution pour appliquer les modifications à l'échantillon.
    d. À partir de la disposition de la plaque, sélectionner la position '**A12**', changer 'Sample type:' ('Type d'échantillon :') en '**Positive Control**' ('Témoin positif')
    e. Dans le menu déroulant, saisir « **PCM** » dans la case vide à côté de 'Sample name:' ('Nom d'échantillon :')
    f. Cliquer sur l'icône d'analyse pour appliquer les modifications à l'échantillon
11. Enregistrer le modèle pour les analyses ultérieures en cliquant sur 'File' ('Fichier') dans la barre de menu supérieure et en sélectionnant 'Save Template' dans le menu déroulant
12. Soulever le couvercle de l'instrument et charger la plaque.
13. Dans la fenêtre contextuelle 'Save As' ('Enregistrer Sous') à côté de 'File Name' ('Nom de Fichier'), nommer le modèle « Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete Template » et cliquer sur 'Save' ('Enregistrer')

    REMARQUE : Charger la plaque de sorte que la position A1 sur la plaque soit le puits supérieur, le plus à gauche.
14. Fermer et verrouiller le couvercle.
15. Après l'analyse, une fenêtre contextuelle indiquera 'PCR run finished successfully' ('L'analyse par PCR s'est terminée avec succès').
16. Cliquer sur 'Save' ('Enregistrer') pour enregistrer le fichier exécuté
17. Définir le paramètre 'File Name' ('Nom de Fichier') comme « Dual-Target SARS-CoV-2 STAR Complete[YYMMDD_Plate#] » et cliquer sur 'Save' ('Enregistrer')
18. Retirer la plaque et la jeter un sac ou un conteneur à déchets refermable. Sélectionner 'Close Lid' ('Fermer le couvercle') pour fermer le couvercle.

    REMARQUE : Les puits contenant le PCM ainsi que ceux qui ont été positifs pour une cible contiendront des taux élevés d'amplicon qui peuvent entraîner des résultats faussement positifs dans les tests futurs s'ils sont autorisés dans l'environnement du laboratoire. Ne jamais retirer le sceau optique de la plaque après amplification.

13d.2 Consignes d'analyse

1. Sélectionner les puits souhaités pour l'analyse à l'aide de l'option de menu à l'extrême gauche intitulée 'Samples' ('Échantillons') .
2. Ouvrir l'option en cliquant sur l'icône 'plus' (+). Une disposition de plaque apparaîtra où les puits souhaités peuvent être sélectionnés.
3. Modifier les paramètres d'analyse à l'aide de l'onglet 'Monitoring' ('Suivre').
    a. Sous 'Measurement' ('Mesure'), cliquer sur 'Calculate Ct' ('Calculer le Ct') pour ouvrir la fenêtre 'Measurement (Ct)' (Mesure (Ct)').
    b. Cliquer sur 'Monitoring' ('Suivre') dans la barre de menu supérieure et sélectionner 'Display options' ('Options d'affichage') dans le menu déroulant. Une fenêtre contextuelle intitulée 'Display options' ('Options d'affichage') apparaîtra.
    c. Modifier les options comme suit :
        - Sous Smoothing' ('Lissage'), modifier la valeur en 'none' ('aucun') à côté de 'Points'
        - Sous 'Scaling' ('Mise à l'échelle'), sélectionner 'logarithmic' ('logarithmique')
        - Sous 'Baseline correction' ('Correction de la ligne de base'), sélectionner 'For all samples' ('Pour tous les échantillons')
            - Remplacer 'From cycle' ('Depuis le cycle') par '1'
            - Remplacer 'From cycle' ('Depuis le cycle') par '6'
        - Confirmer que 'Intensity' ('Intensité') sous 'Filtre' est désactivé (décoché)
        - Cliquer sur 'Ok – Fix Thr.'
4. Appliquer des seuils à l'ensemble de données comme suit :
    a. Dans l'onglet 'Monitoring' ('Suivre') sous 'Measurement (Ct)' ('Mesure (Ct)') , sélectionner l'onglet '**FAM**' sous le tracé et changer le paramètre 'Threshold' ('Seuil') en '1,5'
    b. Sélectionner l'onglet '**Cy5**' et changer le paramètre 'Threshold' ('Seuil') en '5'.
    c. Sélectionner l'onglet '**ROX**' et changer le paramètre 'Threshold' ('Seuil') en '5'.
    d. Enregistrer l'analyse en cliquant sur 'File' ('Fichier') dans la barre de menu supérieure et en sélectionnant 'Save project' ('Enregistrer le projet') dans le menu déroulant.
5. Exporter les valeurs de Ct comme suit :

a. Dans l'onglet 'Monitoring' ('Suivre') sous 'Measurement (Ct)' ('Mesure (Ct)') sélectionner l'onglet 'All colors' ('Toutes les couleurs') sous le tracé
b. Faire un clic droit sur le tableau sous le tracé et enregistrer les données dans l'une des options proposées ('Save table as Excel-File' ('Enregistrer le tableau en Fichier Excel'), 'Save table as Excel-File' ('Enregistrer le tableau en Fichier Excel'))
c. Ouvrir Excel et enregistrer le tableau en tant que fichier CSV
d. Dans la fenêtre contextuelle 'Save As' ('Enregistrer Sous'), définir le paramètre 'File name:' ('Nom de Fichier :') pour l'ensemble de données
e. Cliquer sur 'Save' ('Enregistrer')
f. Fermer le logiciel.