

## **Mode d'emploi**

**RealStar<sup>®</sup>**

**Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0**

03/2019 FR



# RealStar®

## Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0

Pour utilisation avec

Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)

VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare)

ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)

ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)

Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research)

Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)

CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)

CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)

LightCycler® 480 Instrument II (Roche)



351013



2 x 48



03 2019



altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12 • D-22767 Hamburg

## Sommaire

|            |  |           |
|------------|--|-----------|
| <b>1.</b>  | <b>Usage prévu.....</b>  | <b>6</b>  |
| <b>2.</b>  | <b>Composants du kit.....</b>                                  | <b>6</b>  |
| <b>3.</b>  | <b>Stockage .....</b>  | <b>7</b>  |
| <b>4.</b>  | <b>Matériel requis non fourni .....</b>                        | <b>8</b>  |
| <b>5.</b>  | <b>Informations générales.....</b>                             | <b>9</b>  |
| <b>6.</b>  | <b>Description du produit.....</b>                             | <b>11</b> |
| 6.1        | Instruments de PCR en temps réel .....                         | 13        |
| <b>7.</b>  | <b>Mises en garde et précautions.....</b>                      | <b>14</b> |
| <b>8.</b>  | <b>Procédure .....</b>   | <b>15</b> |
| 8.1        | Préparation du prélèvement.....                                | 15        |
| 8.2        | Préparation du Mastermix.....                                  | 16        |
| 8.3        | Préparation de la réaction.....                                | 18        |
| <b>9.</b>  | <b>Programmation des instruments de PCR en temps réel.....</b> | <b>19</b> |
| 9.1        | Paramètres.....  | 19        |
| 9.2        | Marqueurs de fluorescence (fluorophores) .....                 | 19        |
| 9.3        | Profil de température et acquisition du fluorophore .....      | 20        |
| <b>10.</b> | <b>Analyse des données .....</b>                               | <b>20</b> |
| 10.1       | Validation des tests de diagnostic.....                        | 21        |
| 10.1.1     | Validité des tests de diagnostic (qualitatif) .....            | 21        |
| 10.1.2     | Invalidité des tests de diagnostic (qualitatif).....           | 21        |
| 10.2       | Interprétation des résultats.....                              | 22        |
| 10.2.1     | Analyse qualitative .....                                      | 22        |
| <b>11.</b> | <b>Evaluation des performances .....</b>                       | <b>23</b> |

|            |   |           |
|------------|---|-----------|
| 11.1       | Sensibilité analytique .....                                      | 23        |
| 11.2       | Spécificité analytique .....                                      | 27        |
| 11.3       | Précision .....   | 28        |
| <b>12.</b> | <b>Restrictions .....</b>   | <b>31</b> |
| <b>13.</b> | <b>Contrôle qualité .....</b>                                     | <b>32</b> |
| <b>14.</b> | <b>Assistance technique .....</b>                                 | <b>32</b> |
| <b>15.</b> | <b>Bibliographie .....</b>  | <b>32</b> |
| <b>16.</b> | <b>Marques de commerce et clauses de non-responsabilité .....</b> | <b>33</b> |
| <b>17.</b> | <b>Explications des symboles .....</b>                            | <b>34</b> |

## 1. Usage prévu

Le kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 est un test de diagnostic *in vitro*, basé sur la technologie de PCR en temps réel, pour la détection qualitative et la différenciation de ADN des espèces pathogènes pour l'homme de *Plasmodium Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium knowlesi*, *Plasmodium vivax* et *Plasmodium falciparum*.

## 2. Composants du kit

Le kit contient 2 tests PCR différents permettant 48 réactions chacun. Il comporte deux contrôles positifs différents : un pour le système d'amplification et de détection spécifiques de *Plasmodium (P.) knowlesi*, *P. malariae* et *P. ovale* et un autre pour le système d'amplification et de détection spécifiques de *P. falciparum* et *P. vivax*.

| Couleur du bouchon | Composants                              | Nombre de tubes | Volume [µL/tube] |
|--------------------|---|-----------------|------------------|
| Bleu               | Master A Pk/Pm/Po <sup>1)</sup>         | 4               | 60               |
| Violet             | Master B Pk/Pm/Po <sup>1)</sup>         | 4               | 180              |
| Bleu Claire        | Master A Pf/Pv <sup>2)</sup>            | 4               | 60               |
| Violet Claire      | Master B Pf/Pv <sup>2)</sup>            | 4               | 180              |
| Vert               | Internal Control                        | 1               | 1000             |
| Rouge              | Positive Control Pk/Pm/Po <sup>1)</sup> | 1               | 250              |
| Orange             | Positive Control Pf/Pv <sup>2)</sup>    | 1               | 250              |
| Blanc              | Water (PCR grade)                       | 1               | 500              |

<sup>1)</sup> Pk - *Plasmodium knowlesi*, Pm - *Plasmodium malariae*, Po - *Plasmodium ovale*

<sup>2)</sup> Pf - *Plasmodium falciparum*, Pv - *Plasmodium vivax*

### 3. Stockage

- Le kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 est livré sur de la neige carbonique. Les composants du kit doivent arriver congelés. Si un ou plusieurs composants ne sont pas congelés à réception, ou si l'un des tubes a été endommagé pendant le transport, merci de contacter Altona Diagnostics GmbH pour assistance.
- Tous les composants doivent être conservés entre -25°C et -15°C dès leur livraison.
- Il convient d'éviter des cycles répétés de congélation-décongélation (plus de deux) car cela peut affecter les performances du test. Les réactifs doivent être congelés en aliquots en cas d'utilisation occasionnelle.
- La conservation entre +2°C et +8°C ne doit pas excéder une période de deux heures.
- Le Master A et le Master B doivent être conservés à l'abri de la lumière.

## 4. Matériel requis non fourni

- Instrument adapté à la PCR en temps réel (Chapitre 6.1 Instruments de PCR en temps réel)
- Système ou kit approprié à l'extraction des acides nucléiques (voir chapitre 8.1 Préparation du prélèvement)
- Centrifugeuse de paillasse avec rotor pour des tubes réactionnels de 2 mL
- Centrifugeuse avec rotor pour microplaques, si des plaques de 96 puits sont utilisées
- Vortex
- Plaques de 96 puits ou tubes réactionnels avec le matériel de fermeture correspondant (optique)
- Pipettes (réglables)
- Cônes avec filtres (jetables)
- Gants non poudrés (jetables)

### REMARQUE



*Merci de vous assurer que les instruments ont été installés, calibrés, vérifiés et entretenus selon les instructions et les recommandations du fabricant.*

### NOTE



*Il est fortement recommandé d'utiliser le rotor de 72 puits avec les tubes réactionnels de 0,1 ml correspondants, si le Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research) ou le Rotor-Gene® Q 5/6 plex (QIAGEN) est utilisé.*



## 5. Informations générales

Le paludisme est une maladie à transmission vectorielle causée par une infection protozoaire. Les parasites du genre *Plasmodium* sont transmis à leurs hôtes vertébrés pendant l'ingestion de sang par une femelle moustique infectée du genre *Anopheles*. Le cycle de vie des parasites comprend un changement d'hôte de l'arthropode vers l'hôte vertébré et est plutôt complexe, mais peut être divisé en 3 phases majeures. Ces phases sont fondées sur le stade du moustique parasitaire, le stade du foie humain et le stade du sang humain. Il existe cinq espèces pathogènes pour l'homme connues de *Plasmodium*, à savoir *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium knowlesi*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium vivax* et *Plasmodium malariae* [1].

Les manifestations du paludisme sont différentes selon les espèces de *Plasmodium* responsables de l'infection. En général, les premiers symptômes du paludisme sont peu spécifiques : fièvre, maux de tête, faiblesse générale de l'organisme, myalgie, frissons, étourdissements, douleur abdominale, diarrhée, nausées et vomissements. *P. falciparum* et *P. knowlesi* peuvent causer un paludisme grave chez les humains [2,3]. *P. falciparum* est responsable d'un taux de létalité > 90 % chaque année, principalement chez les enfants [2].

*P. knowlesi* passe par un stade érythrocytaire court (24 heures) durant lequel il se reproduit rapidement [4]. L'hyperparasitémie en résultant peut entraîner des complications mortelles comme une défaillance de plusieurs organes ou la mort du patient. *P. knowlesi* a souvent été diagnostiqué à tort comme *P. malariae* en raison de leurs similitudes phénotypiques ou comme *P. vivax* sur la base de leurs similitudes génétiques avant le développement d'un test à base de PCR spécifique à *P. knowlesi* [5].

Bien que *P. vivax* soit considéré comme un parasite bénin, il provoque des manifestations cliniques incapacitantes et des complications menaçant le pronostic vital comme une anémie grave, une thrombocytopénie et des paroxysmes dangereux [6].

Une infection par *P. ovale* est souvent prise à tort pour une infection par *P. vivax* en raison de sa fièvre tierce. Les infections par l'une ou l'autre des espèces de parasites présentent des symptômes similaires et sont traitées de manière similaire, la seule différence résidant dans la gravité potentielle d'une infection par *P. vivax*. Par ailleurs, les infections par *P. ovale* et *P. vivax* sont caractérisées par des rechutes incapacitantes répétées provenant des hypnozoïtes dormants qui persistent dans les hépatocytes même après l'élimination des parasites [1].

Les infections par *P. malariae* sont caractérisées par une faible parasitémie et une évolution légère de la maladie.

Le diagnostic du paludisme par microscopie de frottis sanguins fins ou épais colorés au Giemsa est la méthode de référence absolue [7]. En outre, des tests de diagnostic rapide sont généralement effectués et recommandés par l'Organisation mondiale de la santé (OMS). Cependant, la sensibilité et la spécificité de ces méthodes sont largement limitées et la différenciation des espèces de *Plasmodium* est quasi-impossible avec l'une ou l'autre de ces techniques[8]. Il existe un besoin évident en outils de diagnostic plus sensibles qui seraient rapides, précis et permettraient un typage précis des espèces de *Plasmodium*, pour une gestion et un contrôle efficaces de la maladie. Les techniques moléculaires telles que le PCR en temps réel deviennent de plus en plus populaires car elles constituent des alternatives plus sensibles, fiables [9,10] et faciles à utiliser à la référence absolue. Des outils de diagnostic sensibles et spécifiques correctement utilisés peuvent éviter une utilisation inutile d'antipaludiques et contribuer à une gestion de la maladie appropriée et économique.

- [1] Cowman AF, Healer J, Marapana D, Marsh K (2016), Malaria: Biology and Disease. Cell. 167(3):610-624.
- [2] Organisation mondiale de la Santé (2015), OMS Rapport 2015 sur le paludisme dans le monde. Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse.
- [3] Cox-Singh J, Davis TM, Lee KS, Shamsul SS, Matusop A, Ratnam S, Rahman HA, Conway DJ, Singh B (2008), Plasmodium knowlsei malaria in humans is widely distributed and potentially life threatening. Clin Infect Dis., 46(2):165–71.

- [4] White NJ (2008), *Plasmodium knowlesi*: the fifth human malaria parasite. *Clin Infect Dis.*, 15;46(2):172-3.
- [5] Divis PC, Shokoples SE, Singh B, and Yanow Stephanie K (2010), A TaqMan real-time PCR assay for the detection and quantitation of *Plasmodium knowlesi*. *Malar J*, 9:344.
- [6] Dhanpat K. Kochar, Vishal Saxena, Narvachan Singh, Sanjay K. Kochar, S. Vijay Kumar, and Ashis Das (2005), *Plasmodium vivax* Malaria. *Emerg Infect Dis.* 11(1):132-134.
- [7] Warhurst, D. C., and J. E. Williams (1996), Laboratory diagnosis of malaria. *J. Clin. Pathol.* 49:533-538.
- [8] Organisation mondiale de la Santé (2000), WHO/MAL/2000.1091. New perspectives in malaria diagnosis. Organisation mondiale de la Santé, Genève, Suisse.
- [9] Snounou, G., S. Viriyakosol, W. Jarra, S. Thaithong, and K. N. Brown (1993), Identification of the four human malarial species in field samples by the polymerase chain reaction and detection of a high prevalence of mixed infections. *Mol. Biochem. Parasitol.* 58:283-292.
- [10] Sethabutr, O., A. E. Brown, S. Panyim, K. C. Kain, K. Webster, and P. Echeverria (1992), Detection of *Plasmodium falciparum* by polymerase chain reaction in a field study. *J. Infect. Dis.* 166:145-148.

## 6. Description du produit

Le kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 est un test de diagnostic *in vitro*, basé sur la technologie de PCR en temps réel, pour la détection qualitative et la différenciation de ADN des espèces pathogènes pour l'homme de *Plasmodium Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale*, *Plasmodium knowlesi*, *Plasmodium vivax* et *Plasmodium falciparum*.

Le RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 consiste en deux tests indépendants, l'un ciblant spécifiquement *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi* ADN et l'autre ciblant spécifiquement *P. vivax* et *P. falciparum* ADN.

Les deux tests comprennent un système d'amplification hétérologue (contrôle interne) afin d'identifier d'éventuelles inhibitions de la PCR et de confirmer l'intégrité des réactifs du kit.

La technologie PCR en temps réel utilise la réaction en chaîne par polymérase (PCR) pour l'amplification de séquences cibles spécifiques et de sondes spécifiques aux cibles pour la détection de l'ADN amplifié. Les sondes sont marquées avec un marqueur fluorescent (reporter) et un désactivateur (quencher).

Mastermix Pk/Pm/Po : La sonde spécifique de *P. knowlesi* ADN est marquée par le fluorophore ROX™, la sonde spécifique de *P. malariae* ADN est marquée par le fluorophore FAM™, et la sonde spécifique de *P. ovale* ADN est marquée par le fluorophore Cy®5.

Mastermix Pf/Pv : La sonde spécifique de *P. falciparum* ADN est marquée par le fluorophore FAM™, et la sonde spécifique de *P. vivax* ADN est marquée par le fluorophore Cy®5.

La sonde spécifique du contrôle interne (IC) est marquée par le fluorophore JOE™.

L'utilisation de sondes associées à des colorants différents permet la détection en parallèle de ADN spécifique de *P. knowlesi*, *P. malariae*, *P. ovale* et *P. falciparum*, *P. vivax* ainsi que la détection du contrôle interne dans les canaux correspondants de l'instrument PCR en temps réel.

Le test pour les deux analyses consiste en deux processus réalisés dans un même tube réactionnel :

- L'amplification par PCR de l'ADN cible et contrôle interne
- La détection simultanée des amplicons de PCR par des sondes marquées par un fluorophore

Le kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 est composé de :

- Master A Pk/Pm/Po
- Master B Pk/Pm/Po
- Master A Pf/Pv
- Master B Pf/Pv

- Internal Control
- Positive Control Pk/Pm/Po
- Positive Control Pf/Pv
- Water (PCR grade)

Le kit Master A et Master B Pk/Pm/Po contient tous les éléments (tampon PCR, ADN-polymérase, sel de magnésium, amorces et sondes) nécessaires à l'amplification par PCR et à la détection de l'ADN spécifique de *P. knowlesi*, *P. malariae* et *P. ovale* et du contrôle interne en une seule réaction.

Le kit Master A et Master B Pf/Pv contient tous les éléments (tampon PCR, ADN-polymérase, sel de magnésium, amorces et sondes) nécessaires à l'amplification par PCR et à la détection de l'ADN spécifique de *P. falciparum* et de *P. vivax* et du contrôle interne en une seule réaction.

### 6.1 Instruments de PCR en temps réel

Le kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 a été développé et validé pour être utilisé avec les instruments de PCR en temps réel suivants :

- Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)
- VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)
- Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
- CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

## 7. Mises en garde et précautions

*Lire attentivement le manuel d'utilisation avant d'utiliser le produit.*

- Avant toute utilisation, veuillez vérifier que le produit et ses composants :
  - Ne sont pas endommagés,
  - Sont complets : nombre, type et volume (voir le chapitre 2. Composants du kit)
  - Sont correctement étiquetés,
  - Sont congelés à la réception
- L'utilisation de ce produit est limitée au personnel qualifié et formé aux techniques de PCR en temps réel et *aux procédures* de diagnostic in vitro.
- Manipuler les échantillons comme s'ils étaient infectieux et/ou dangereux, en accord avec les procédures de sécurité en vigueur dans le laboratoire.
- Porter des gants jetables non talqués, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons.
- Eviter les contaminations microbiennes et nucléaires (par ADNase/ARNase) de l'échantillon et des composants du kit.
- Toujours utiliser des pipettes à cônes jetables avec filtre, non contaminées par de l'ADNase et de l'ARNase.
- Toujours porter des gants de protection non talqués lors de la manipulation des composants du kit.
- Utiliser des zones de travail séparées les unes des autres pour les différentes activités de (i) préparation des échantillons, (ii) préparation de la réaction et (iii) les étapes d'amplification/détection. Le sens de travail dans le laboratoire doit être unidirectionnel. Portez toujours des gants jetables dans chacune des zones de travail et changez-en avant de pénétrer dans une zone différente.
- Dédier des fournitures et du matériel pour chaque zone de travail et ne pas les déplacer d'une zone à une autre.
- Conserver le matériel positif et/ou potentiellement positif séparément des autres composants du kit.

- Ne pas ouvrir les tubes/plaques de réaction après l'amplification afin d'éviter toute contamination par les amplicons.
- Des témoins additionnels peuvent devoir être testés selon les directives des organisations locales/gouvernementales ou des organismes d'accréditation.
- Ne pas autoclaver des tubes réactionnels après une PCR, car ceci ne dégrade pas les acides nucléiques amplifiés et risque de contaminer le laboratoire.
- Ne pas utiliser les composants au-delà de leur date de péremption.
- Eliminer les échantillons et les déchets de l'essai conformément aux règles de sécurité locales.

## 8. Procédure

### 8.1 Préparation du prélèvement

Le ADN est le produit de départ pour le kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0.

La qualité du ADN extrait a un impact significatif sur la performance de l'ensemble du test. Il est recommandé de s'assurer que le système d'extraction des acides nucléiques utilisé est compatible avec la technologie de PCR en temps réel. Les kits et systèmes suivants sont compatibles pour l'extraction des acides nucléiques :

- QIAamp® DNA Mini Kit (QIAGEN)
- QIAamp® DNA Blood Mini Kit (QIAGEN)
- QIASymphony® (QIAGEN)
- NucliSENS® easyMag® (bioMérieux)
- MagNA Pure 96 System (Roche)
- m2000sp (Abbott)
- Maxwell® 16 IVD Instrument (Promega)
- VERSANT® kPCR Molecular System SP (Siemens Healthcare)

D'autres kits ou systèmes d'extraction des acides nucléiques peuvent être appropriés. L'aptitude de la procédure d'extraction des acides nucléiques à utiliser avec RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 doit être validée par l'utilisateur.

Si la préparation des échantillons s'effectue sur une colonne comportant des tampons de lavage à l'éthanol, une étape de centrifugation supplémentaire de 10 minutes à environ 17 000 x g (~ 13 000 tr/min), dans un nouveau tube à essai, est vivement recommandée avant l'élution des acides nucléiques.

#### ATTENTION



***Si votre système de préparation des échantillons utilise des tampons de lavage à l'éthanol, assurez-vous d'éliminer toute trace d'éthanol avant de procéder à l'élution des acides nucléiques. L'éthanol est un fort inhibiteur de la PCR en temps réel.***

#### ATTENTION



***L'utilisation d'ARN porteur (carrier) est cruciale pour l'efficacité de l'extraction et la stabilité des acides nucléiques extraits.***

Pour toute information complémentaire ou assistance technique sur le prétraitement et la préparation des échantillons, merci de contacter notre support technique (voir chapitre 14. Assistance technique).

## 8.2 Préparation du Mastermix

Tous les réactifs doivent être complètement décongelés, homogénéisés (par pipetage ou léger vortexage) et brièvement centrifugés avant utilisation.

Le kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 contient un contrôle interne hétérologue pouvant être utilisé soit comme contrôle d'inhibition de la PCR soit comme contrôle de la préparation de l'échantillon (extraction des acides nucléiques) et de l'inhibition de la PCR.



- ▶ Si le contrôle interne est utilisé comme un contrôle d'inhibition de la PCR, mais non comme contrôle de préparation de l'échantillon, chaque Mastermix (Mastermix Pk/Pm/Po et Mastermix Pf/PV) doit être préparé comme décrit par le schéma de pipetage ci-dessous :

| Nombre de réactions (rxns)          | 1            | 12            |
|-------------------------------------|--------------|---------------|
| Master A                            | 5 µl         | 60 µl         |
| Master B                            | 15 µl        | 180 µl        |
| Internal Control (contrôle interne) | 1 µl         | 12 µl         |
| <b>Volume Mastermix</b>             | <b>21 µl</b> | <b>252 µl</b> |

- ▶ Si le contrôle interne est utilisé comme contrôle de préparation de l'échantillon, et d'inhibition de la PCR, le contrôle interne doit être ajouté au moment de la procédure d'extraction des acides nucléiques.
- ▶ Quelle que soit la méthode ou le système utilisé pour l'extraction des acides nucléiques, le contrôle interne **ne doit jamais** être ajouté directement à l'échantillon. Le contrôle interne doit toujours être ajouté au mélange échantillon/tampon de lyse. Le volume du contrôle interne à ajouter dépend toujours et uniquement du volume d'élution, dont il représente 10 %. Par exemple si les acides nucléiques doivent être élués dans 60 µL de tampon d'élution ou d'eau, 6 µL de contrôle interne par échantillon doivent être ajoutés au mélange échantillon/tampon de lyse.
- ▶ Si le contrôle interne est ajouté pendant la préparation de l'échantillon, chaque Mastermix (Mastermix Pk/Pm/Po et Mastermix Pf/Pv) doit être préparé comme décrit par le schéma de pipetage ci-dessous :

| Nombre de réactions (rxns) | 1            | 12            |
|----------------------------|--------------|---------------|
| Master A                   | 5 µl         | 60 µl         |
| Master B                   | 15 µl        | 180 µl        |
| <b>Volume Mastermix</b>    | <b>20 µl</b> | <b>240 µl</b> |

**ATTENTION**

*Si le contrôle interne a été ajouté pendant la phase de préparation de l'échantillon, au moins le contrôle négatif doit inclure le contrôle interne.*

**ATTENTION**

*Quelle que soit la méthode ou le système utilisé pour l'extraction des acides nucléiques, ne jamais ajouter le contrôle interne directement à l'échantillon.*

**8.3 Préparation de la réaction**

- ▶ Pipeter 20 µL de Mastermix Pk/Pm/Po ou de Mastermix Pf/Pv dans chacun des puits nécessaires de la plaque 96 puits ou d'un tube à essai permettant les réactions optiques.
- ▶ Ajouter 10 µL d'échantillon (éluat issu de l'extraction des acides nucléiques) ou 10 µL des contrôles (contrôles positifs ou négatifs).

| Préparation de la réaction |              |
|----------------------------|--------------|
| Mastermix                  | 20 µl        |
| Echantillon ou contrôle    | 10 µl        |
| <b>Volume total</b>        | <b>30 µl</b> |

- ▶ S'assurer qu'au moins un contrôle positif (contrôle positif Pk/Pm/Po pour Mastermix Pk/Pm/Po et contrôle positif Pf/Pv pour Mastermix Pf/Pv) et au moins un contrôle négatif sont utilisés par Mastermix et essai.
- ▶ Homogénéiser avec soin les échantillons et les contrôles avec le Mastermix par pipetage.
- ▶ Couvrir la plaque 96 puits avec un film adhésif transparent approprié et les tubes réactionnels à l'aide de bouchons appropriés.

- ▶ Centrifuger les plaques de 96 puits à l'aide d'un rotor à microplaques pendant 30 secondes à environ 1 000 x g (~ 3 000 tr/min).

### 9. Programmation des instruments de PCR en temps réel

Pour obtenir des informations générales sur la préparation et la programmation des différents instruments de PCR en temps réel, veuillez consulter les manuels d'utilisation des instruments respectifs.

Pour des instructions sur la programmation relative à l'utilisation du kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 avec un instrument de PCR en temps réel spécifique, merci de contacter notre support technique (voir chapitre 14. Assistance technique).

#### 9.1 Paramètres

- ▶ Définir les paramètres suivants :

| Paramètres          |            |
|---------------------|------------|
| Volume de réaction  | 30 µl      |
| Vitesse de la rampe | Par défaut |
| Référence passive   | Aucun      |

## 9.2 Marqueurs de fluorescence (fluorophores)

► Définir les marqueurs de fluorescence (fluorophores) :

| Cible                                  | Mastermix         | Nom du marqueur      | Fluorophore (Reporter) | Désactivateur (Quencher) |
|--|-------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|
| Spécifique de <i>P. knowlesi</i> ADN   | Pk/Pm/Po          | <i>P. knowlesi</i>   | ROX™                   | (aucun)                  |
| Spécifique de <i>P. malariae</i> ADN   |                   | <i>P. malariae</i>   | FAM™                   | (aucun)                  |
| Spécifique de <i>P. ovale</i> ADN      |                   | <i>P. ovale</i>      | Cy®5                   | (aucun)                  |
| Spécifique de <i>P. falciparum</i> ADN | Pf/Pv             | <i>P. falciparum</i> | FAM™                   | (aucun)                  |
| Spécifique de <i>P. vivax</i> ADN      |                   | <i>P. vivax</i>      | Cy®5                   | (aucun)                  |
| Internal Control (contrôle interne)    | Pk/Pm/Po et Pf/Pv | IC                   | JOE™                   | (aucun)                  |

## 9.3 Profil de température et acquisition du fluorophore

► Définir le profil de température et l'acquisition du fluorophore :

|               | Mode d'analyse | Nombre de cycles | Acquisition | Température [°C] | Durée [min:sec] |
|---------------|----------------|------------------|-------------|------------------|-----------------|
| Dénaturation  | Stationnaire   | 1                | -           | 95               | 02:00           |
| Amplification | Cyclique       | 45               | -           | 95               | 00:15           |
|               |                |                  | Oui         | 58               | 00:45           |
|               |                |                  | -           | 72               | 00:15           |

## 10. Analyse des données

Pour des informations de base concernant l'analyse des données sur un instrument de PCR en temps réel spécifique, merci de se référer au manuel de l'instrument concerné.

Pour des informations détaillées concernant l'analyse des données générées avec le kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 sur différents instruments de PCR en temps réel, merci de contacter notre support technique (voir chapitre 14. Assistance technique).

### 10.1 Validation des tests de diagnostic

#### 10.1.1 Validité des tests de diagnostic (qualitatif)

Un test de diagnostic **qualitatif** est **valide**, si les valeurs suivantes des contrôles sont obtenues :

| Nom du Contrôle  | Canal de détection |      |      |      |
|--|--------------------|------|------|------|
|  | ROX™               | FAM™ | Cy®5 | JOE™ |
| Contrôle positif <i>P. knowlesi</i> , <i>P. malariae</i> , <i>P. ovale</i> | +                  | +    | +    | +/-* |
| Contrôle positif <i>P. falciparum</i> , <i>P. vivax</i>                    | -                  | +    | +    | +/-* |
| Contrôle négatif   | -                  | -    | -    | +    |

\* La présence ou l'absence d'un signal dans le canal JOE™ n'est pas pertinente pour la validité de l'essai.

#### 10.1.2 Invalidité des tests de diagnostic (qualitatif)

Un test de diagnostic **qualitatif** est **invalide**, (i) si l'essai n'est pas complet ou (ii) si l'ensemble des conditions de contrôle pour un test de diagnostic **valide** n'est pas obtenu.

En cas d'**invalidité** du test de diagnostic, répéter le test avec les acides nucléiques purifiés restants ou recommencer depuis l'échantillon de départ.

## 10.2 Interprétation des résultats

### 10.2.1 Analyse qualitative

**Tableau 1:** Analyse qualitative au moyen du Mastermix Pk/Pm/Po

| Canal de détection |      |      |      | Master Mix   | Interprétation des résultats  |
|--------------------|------|------|------|--------------|---|
| ROX™               | FAM™ | Cy®5 | JOE™ |              |   |
| +                  | +    | +    | +*   | Pk/Pm/<br>Po | ADN spécifique de <i>P. knowlesi</i> , <i>P. malariae</i> et <i>P. ovale</i> détecté.   |
| +                  | -    | -    | +*   |              | ADN spécifique de <i>P. knowlesi</i> détecté.   |
| -                  | +    | -    | +*   |              | ADN spécifique de <i>P. malariae</i> détecté.   |
| -                  | -    | +    | +*   |              | ADN spécifique de <i>P. ovale</i> détecté.  |
| +                  | +    | -    | +*   |              | ADN spécifique de <i>P. knowlesi</i> et <i>P. malariae</i> détecté.   |
| +                  | -    | +    | +*   |              | ADN spécifique de <i>P. knowlesi</i> et <i>P. ovale</i> détecté.  |
| -                  | +    | +    | +*   |              | ADN spécifique de <i>P. malariae</i> et <i>P. ovale</i> détecté.  |
| -                  | -    | -    | +    |              | ADN spécifique de <i>P. knowlesi</i> , <i>P. malariae</i> ou <i>P. ovale</i> non détecté.   |
| -                  | -    | -    | -    |              | PCR inhibition ou défaillance des réactifs. Répéter le test à partir de l'échantillon d'origine ou bien prélever et tester un nouvel échantillon. |

\* La détection du contrôle interne dans le canal de détection JOE™ n'est pas requise pour des résultats positifs dans le canal de détection Cy®5, FAM™ ou ROX™. Une charge élevée d'ADN de *Plasmodium* spp. dans l'échantillon peut entraîner un signal réduit ou absent du contrôle interne.

**Tableau 2:** Analyse qualitative au moyen du Mastermix Pf/Pv

| Canal de détection |      |      |      | Master Mix | Interprétation des résultats  |
|--------------------|------|------|------|------------|---|
| ROX™               | FAM™ | Cy®5 | JOE™ |            |   |
| S.O.               | +    | +    | +*   | Pf/Pv      | ADN spécifique de <i>P. falciparum</i> et <i>P. vivax</i> détecté.  |
|                    | +    | -    | +*   |            | ADN spécifique de <i>P. falciparum</i> détecté.   |
|                    | -    | +    | +*   |            | ADN spécifique de <i>P. vivax</i> détecté.  |
|                    | -    | -    | +    |            | ADN spécifique de <i>P. falciparum</i> ou <i>P. vivax</i> non détecté.  |
|                    | -    | -    | -    |            | PCR inhibition ou défaillance des réactifs. Répéter le test à partir de l'échantillon d'origine ou bien prélever et tester un nouvel échantillon. |

\* La détection du contrôle interne dans le canal de détection JOE™ n'est pas requise pour des résultats positifs dans le canal de détection Cy®5, FAM™ ou ROX™. Une charge élevée d'ADN de *Plasmodium* spp. dans l'échantillon peut entraîner un signal réduit ou absent du contrôle interne.

## 11. Evaluation des performances

L'évaluation des performances du kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 a été réalisée en utilisant des produits PCR quantifiés et de l'ADN génomique de *Plasmodium* species.

### 11.1 Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 est définie comme étant la concentration (copies/µL d'éluat) de molécules d'ADN spécifiques de *Plasmodium* qui peuvent être détectées avec un taux supérieur à 95 %. La sensibilité analytique a été déterminée en analysant des dilutions en série de produits PCR spécifiques de *Plasmodium* (*P. falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae*, et *P. knowlesi*).

**Tableau 3:** Résultats de PCR utilisés pour le calcul de la sensibilité analytique concernant la détection de l'ADN spécifique de *P. falciparum*

| Conc. d'entrée [copies/μL] | Nombre de répétitions | Nombre de Positifs | Taux de réussite [%] |
|----------------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| 316,228                    | 24                    | 24                 | 100                  |
| 100,000                    | 24                    | 24                 | 100                  |
| 31,622                     | 24                    | 24                 | 100                  |
| 10,000                     | 24                    | 24                 | 100                  |
| 3,161                      | 24                    | 24                 | 100                  |
| 1,000                      | 24                    | 24                 | 100                  |
| 0,316                      | 24                    | 18                 | 75                   |
| 0,100                      | 24                    | 14                 | 58                   |
| 0,032                      | 23                    | 7                  | 30                   |
| 0,000                      | 23                    | 0                  | 0                    |

**Tableau 4:** Résultats de PCR utilisés pour le calcul de la sensibilité analytique concernant la détection de l'ADN spécifique de *P. vivax*

| Conc. d'entrée [copies/μL] | Nombre de répétitions | Nombre de Positifs | Taux de réussite [%] |
|----------------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| 316,228                    | 24                    | 24                 | 100                  |
| 100,000                    | 24                    | 24                 | 100                  |
| 31,622                     | 24                    | 24                 | 100                  |
| 10,000                     | 24                    | 24                 | 100                  |
| 3,161                      | 24                    | 24                 | 100                  |
| 1,000                      | 24                    | 24                 | 100                  |
| 0,316                      | 24                    | 19                 | 79                   |
| 0,100                      | 24                    | 5                  | 21                   |
| 0,032                      | 24                    | 3                  | 13                   |
| 0,000                      | 24                    | 0                  | 0                    |



**Tableau 5:** Résultats de PCR utilisés pour le calcul de la sensibilité analytique concernant la détection de l'ADN spécifique de *P. ovale*

| Conc. d'entrée [copies/μL] | Nombre de répétitions | Nombre de Positifs | Taux de réussite [%] |
|----------------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| 316,228                    | 24                    | 24                 | 100                  |
| 100,000                    | 24                    | 24                 | 100                  |
| 31,622                     | 24                    | 24                 | 100                  |
| 10,000                     | 24                    | 24                 | 100                  |
| 3,161                      | 24                    | 24                 | 100                  |
| 1,000                      | 24                    | 21                 | 88                   |
| 0,316                      | 24                    | 15                 | 63                   |
| 0,100                      | 24                    | 4                  | 17                   |
| 0,032                      | 24                    | 1                  | 4                    |
| 0,000                      | 24                    | 0                  | 0                    |

**Tableau 6:** Résultats de PCR utilisés pour le calcul de la sensibilité analytique concernant la détection de l'ADN spécifique de *P. malariae*

| Conc. d'entrée [copies/μL] | Nombre de répétitions | Nombre de Positifs | Taux de réussite [%] |
|----------------------------|-----------------------|--------------------|----------------------|
| 316,228                    | 24                    | 24                 | 100                  |
| 100,000                    | 24                    | 24                 | 100                  |
| 31,622                     | 24                    | 24                 | 100                  |
| 10,000                     | 24                    | 24                 | 100                  |
| 3,161                      | 24                    | 24                 | 100                  |
| 1,000                      | 24                    | 24                 | 100                  |
| 0,316                      | 24                    | 23                 | 96                   |
| 0,100                      | 24                    | 9                  | 38                   |
| 0,032                      | 24                    | 2                  | 8                    |
| 0,000                      | 24                    | 0                  | 0                    |

**Tableau 7:** Résultats de PCR utilisés pour le calcul de la sensibilité analytique concernant la détection de l'ADN spécifique de *P. knowlesi*

| Conc. d'entrée<br>[copies/μL] | Nombre de<br>répétitions | Nombre de Positifs | Taux de réussite<br>[%] |
|-------------------------------|--------------------------|--------------------|-------------------------|
| 316,228                       | 24                       | 24                 | 100                     |
| 100,000                       | 24                       | 24                 | 100                     |
| 31,622                        | 24                       | 24                 | 100                     |
| 10,000                        | 24                       | 24                 | 100                     |
| 3,161                         | 24                       | 24                 | 100                     |
| 1,000                         | 24                       | 21                 | 88                      |
| 0,316                         | 24                       | 8                  | 33                      |
| 0,100                         | 24                       | 5                  | 21                      |
| 0,032                         | 24                       | 2                  | 8                       |
| 0,000                         | 24                       | 0                  | 0                       |

La sensibilité analytique du kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 a été déterminée par analyse Probit :

- Pour la détection de l'ADN spécifique de *P. falciparum*, la sensibilité analytique est de 0,80 copies/μL d'éluat [intervalle de confiance (IC) à 95 % : 0,44 à 2,45 copies/μL]
- Pour la détection de l'ADN spécifique de *P. vivax*, la sensibilité analytique est de 0,73 copies/μL d'éluat [intervalle de confiance (IC) à 95 % : 0,46 à 1,62 copies/μL]
- Pour la détection de l'ADN spécifique de *P. ovale*, la sensibilité analytique est de 1,46 copies/μL d'éluat [intervalle de confiance (IC) à 95 % : 0,89 à 3,28 copies/μL]
- Pour la détection de l'ADN spécifique de *P. malariae*, la sensibilité analytique est de 0,36 copies/μL d'éluat [intervalle de confiance (IC) à 95 % : 0,24 à 0,74 copies/μL]

- Pour la détection de l'ADN spécifique de *P. knowlesi*, la sensibilité analytique est de 2,35 copies/μL d'éluat [intervalle de confiance (IC) à 95 % : 1,37 à 5,55 copies/μL]

### 11.2 Spécificité analytique

La spécificité analytique du kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 a été évaluée en testant un panel d'ADN/ARN génomique extrait de différents pathogènes liés à *Plasmodium* et à d'autres pathogènes susceptibles de causer des symptômes similaires à ceux de *Plasmodium*.

Le kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 ne présente pas de réactivité croisée avec les pathogènes suivants :

- Virus Chikungunya
- Virus de la dengue
- Virus de la grippe A
- Virus de la grippe B
- Virus du Nil occidental
- *Babesia microti*
- *Leishmania donovani*
- *Leishmania infantum*
- *Leishmania major*
- *Toxoplasma gondii*
- *Trypanosoma brucei*
- *Trypanosoma cruzi*

La spécificité analytique du kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 au respect à la détection des autres espèces de *Plasmodium* a été analysé un panel d'ADN génomique.

Afin de démontrer que RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 peut de détecter et différencier correctement de l'ADN provenant de *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. knowlesi*, *P. malariae* et *P. ovale*, de l'ADN génomique de cinq espèces de *Plasmodium* a été testé au moyen du système de détection CFX96™ Deep Well Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad) pour une analyse PCR en temps réel. Chaque échantillon a réagi positivement à l'ADN spécifique de l'espèce respective de *Plasmodium*, mais négativement pour les quatre autres espèces de *Plasmodium*.



### 11.3 Précision

Les données de précision du kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 ont été déterminées comme étant la variabilité intra-essai (variabilité au sein d'une expérience), la variabilité inter-essai (variabilité entre différentes expériences) et la variabilité interlot (variabilité entre différents lots de production). La variabilité totale a été calculée en combinant les trois analyses.

La variabilité des données est exprimée en termes d'écart type et de coefficient de variation. Les données sont basées sur les valeurs du cycle de seuil ( $C_t$ ). Au moins six répliquats par échantillon ont été analysés pour la variabilité intra-essai, l'inter-essai et la variabilité inter-lots.

**Tableau 8:** Données de précision pour la détection de l'ARN spécifique de *P. ovale*, *P. malariae* et *P. knowlesi*

| <i>P. ovale</i> , <i>P. malariae</i> et <i>P. knowlesi</i> |                    | Valeurs $C_t$<br>moyennes | Ecart type | Coefficient de<br>variation (%) |
|--|--------------------|---------------------------|------------|---------------------------------|
| Variabilité intra-<br>essai                                | <i>P. malariae</i> | 31,88                     | 0,24       | 0,76                            |
|  | <i>P. ovale</i>    | 30,29                     | 0,12       | 0,40                            |
|  | <i>P. knowlesi</i> | 30,39                     | 0,14       | 0,46                            |
| Variabilité inter-<br>essai                                | <i>P. malariae</i> | 31,89                     | 0,18       | 0,58                            |
|  | <i>P. ovale</i>    | 30,30                     | 0,10       | 0,32                            |
|  | <i>P. knowlesi</i> | 30,53                     | 0,14       | 0,45                            |
| Variabilité inter-<br>lot                                  | <i>P. malariae</i> | 31,95                     | 0,11       | 0,35                            |
|  | <i>P. ovale</i>    | 30,26                     | 0,11       | 0,35                            |
|  | <i>P. knowlesi</i> | 30,40                     | 0,11       | 0,35                            |
| Variabilité totale   | <i>P. malariae</i> | 31,92                     | 0,16       | 0,51                            |
|  | <i>P. ovale</i>    | 30,27                     | 0,10       | 0,32                            |
|  | <i>P. knowlesi</i> | 30,48                     | 0,15       | 0,49                            |

**Tableau 9:** Données de précision pour la détection de l'ADN spécifique de *P. falciparum* et *P. vivax*

| <i>P. falciparum</i> et <i>P. vivax</i> |                      | Valeurs $C_t$ moyennes | Ecart type | Coefficient de variation (%) |
|---|----------------------|------------------------|------------|------------------------------|
| Variabilité intra-essai                 | <i>P. falciparum</i> | 31,72                  | 0,11       | 0,35                         |
|   | <i>P. vivax</i>      | 31,71                  | 0,26       | 0,82                         |
| Variabilité inter-essai                 | <i>P. falciparum</i> | 31,38                  | 0,37       | 0,14                         |
|   | <i>P. vivax</i>      | 31,57                  | 0,24       | 0,77                         |
| Variabilité inter-lot                   | <i>P. falciparum</i> | 31,42                  | 0,33       | 1,04                         |
|   | <i>P. vivax</i>      | 31,09                  | 0,40       | 1,27                         |
| Variabilité totale                      | <i>P. falciparum</i> | 31,29                  | 0,33       | 1,04                         |
|   | <i>P. vivax</i>      | 31,30                  | 0,46       | 1,46                         |

**Tableau 10:** Données de précision pour la détection du contrôle interne au moyen de Pk/Pm/Po

| Internal Control (contrôle interne) | Run seuil ( $C_t$ ) | Ecart type | Coefficient de variation (%) |
|-------------------------------------|---------------------|------------|------------------------------|
| Variabilité intra-essai             | 25,88               | 0,07       | 0,29                         |
| Variabilité inter-essai             | 25,64               | 0,27       | 1,05                         |
| Variabilité inter-lot               | 25,89               | 0,06       | 0,23                         |
| Variance totale                     | 25,72               | 0,25       | 0,97                         |

**Tableau 11:** Données de précision pour la détection du contrôle interne au moyen de Pf/Pv

| Internal Control (contrôle interne) | Run seuil (C <sub>t</sub> ) | Ecart type | Coefficient de variation (%) |
|-------------------------------------|-----------------------------|------------|------------------------------|
| Variabilité intra-essai             | 26,73                       | 0,13       | 0,47                         |
| Variabilité inter-essai             | 26,90                       | 0,21       | 0,76                         |
| Variabilité inter-lot               | 26,96                       | 0,13       | 0,49                         |
| Variance totale                     | 26,89                       | 0,17       | 0,63                         |

## 12. Restrictions

- Un respect strict du mode d'emploi est nécessaire pour obtenir des résultats optimaux.
- L'utilisation de ce produit est limitée au personnel qualifié et formé aux techniques de PCR en temps réel et aux procédures de diagnostic *in vitro*.
- Le respect des bonnes pratiques de laboratoire est essentiel au bon fonctionnement de ce test. Il convient de faire preuve de la plus grande vigilance pour préserver la pureté des composants du kit et des configurations de réaction. Tous les réactifs doivent faire l'objet d'une surveillance étroite pour détecter la présence d'impuretés et toute contamination éventuelle. Tout réactif suspect doit être jeté.
- Les procédures de prélèvement des échantillons, de transport, de stockage et de traitement appropriées doivent être respectées pour un fonctionnement optimal de ce test.
- Ce test ne doit pas être utilisé directement sur les échantillons. Les méthodes appropriées d'extraction d'acides nucléiques doivent être effectuées avant d'utiliser ce test.
- La présence d'inhibiteurs de la PCR (p. ex. l'héparine) peut entraîner une ou donner des résultats faussement négatifs ou non valides.

- Les mutations potentielles dans les régions cibles du génome du *Plasmodium* spp. couvertes par les amorces et/ou les sondes utilisées dans le kit peuvent entraîner une empêcher de détecter la présence des pathogènes.
- Comme pour tout test de diagnostic, les résultats obtenus avec le kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 doivent être interprétés en tenant compte des autres constatations cliniques et résultats de laboratoire.

### 13. Contrôle qualité

Conformément au système de gestion de la qualité de Altona Diagnostics GmbH certifié NF EN ISO 13485, chaque lot du kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 est testé sur la base de spécifications prédéterminées afin d'assurer une qualité constante du produit.

### 14. Assistance technique

Pour bénéficier d'un service après-vente, veuillez contacter notre service d'assistance technique aux coordonnées suivantes :

**e-mail:** [support@altona-diagnostics.com](mailto:support@altona-diagnostics.com)

**téléphone:** +49-(0)40-5480676-0

### 15. Bibliographie

Versalovic, James, Carroll, Karen C., Funke, Guido, Jorgensen, James H., Landry, Marie Louise and David W. Warnock (ed). Manual of Clinical Microbiology. 10th Edition. ASM Press, 2011.

Cohen, Jonathan, Powderly, William G, and Steven M Opal. Infectious Diseases, Third Edition. Mosby, 2010.



## 16. Marques de commerce et clauses de non-responsabilité

RealStar® (altona Diagnostics); ABI Prism® (Applied Biosystems); ATCC® (American Type Culture Collection); CFX96™ (Bio-Rad); Cy® (GE Healthcare); FAM™, JOE™, ROX™ (Life Technologies); LightCycler® (Roche); SmartCycler® (Cepheid); Maxwell® (Promega); Mx 3005P™ (Stratagene); NucliSENS®, easyMag® (bioMérieux); Rotor-Gene®, QIAamp®, MinElute®, QIASymphony® (QIAGEN); VERSANT® (Siemens Healthcare).

Les noms déposés, les marques, etc. mentionnés dans ce document, même s'ils ne sont pas expressément désignés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés juridiquement.

Le kit RealStar® Malaria Screen & Type PCR Kit 1.0 est un kit de diagnostic au marquage CE conformément à la directive européenne 98/79/CE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro*.

Produit non homologué auprès de Santé Canada, non approuvé par la FDA.

Produit distribué dans certains pays uniquement.

© 2019 altona Diagnostics GmbH; tous droits réservés.

## 17. Explications des symboles

| Symbole   | Explication   |
|---|---|
|    | Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>    |
|    | Code du lot   |
|    | Couleur du capuchon                                 |
|    | Numéro de catalogue                                 |
|    | Contenu   |
|    | Numéro  |
|    | Composant   |
|    | Code article international                          |
|    | Consultez le mode d'emploi                          |
|    | Contenu suffisant pour « n » tests/réactions (rxns) |
|  | Limites de température                              |
|  | Date de péremption                                  |
|  | Fabricant   |
|  | Attention   |
|  | Note  |
|  | Version   |



**always a drop ahead.**

altona Diagnostics GmbH  
Mörkenstr. 12  
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0  
fax +49 40 548 0676 10  
e-mail [info@altona-diagnostics.com](mailto:info@altona-diagnostics.com)

[www.altona-diagnostics.com](http://www.altona-diagnostics.com)

