

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen



EurobioPlex

DermaScreen

Real-Time PCR

For **qualitative** real-time PCR

REF

EBX-073-25 /EBX-073-50/EBX-073-100/EBX-073-200/EBX-073-400/EBX-073-600



25/50/100/200/400/600 reactions



Reference EBX-073 Version 1.06 from 04/03/2025

For use and validated with :

- CFX96™ Real Time PCR detection system (Bio-Rad) with analysis on the CFX Maestro versions 1.1 and 2.3 (Bio-Rad) software or with the CFX Manager version 3.1 (Bio-Rad) software
- CFX Opus 96 Real Time PCR detection system (Bio-Rad) with analysis on the CFX Maestro versions 1.1 and 2.3 (Bio-Rad) software or with the CFX Manager version 3.1 (Bio-Rad) software
- QuantStudio 5/7 Pro (Thermofisher) with analysis on the Design and Analysis version 2.7.0 (Thermofisher) software
- LC480 II (Roche) with analysis on the LightCycler® 480 SW version 1.5.1 (Roche) software
- LC PRO (Roche) with analysis on the LightCycler PRO version 1.0 (Roche) software
- MIC (Bio Molecular Systems) with analysis on the mic PCR version 2.12.6 (Bio Molecular Systems) software



Instructions for Use

Available on request from info@eurobio-scientific.com

The Summary of Safety and Performance Characteristics (SPPC) will be made available by the Notified Body on EUDAMED once it is operational. It can also be obtained on request.

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

ENGLISH.....	1
FRANÇAIS.....	22

Table of contents

1. Introduction.....	3
2. Intended use.....	3
3. Symbols.....	4
4. Principle.....	5
5. Content of the kit.....	6
6. Storage.....	6
7. Materials required but not provided.....	6
8. Real-time PCR instrument.....	7
9. Cautions and notes.....	7
10. Procedure.....	8
11. Validation of the PCR run.....	11
12. Data analysis and interpretation.....	15
13. Performances analysis.....	17
14. Bibliography.....	20
15. Quality Control.....	20
16. Waste disposal.....	20
17. Incident report.....	21
18. Technical assistance.....	21

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

1. Introduction

Dermatophytes are common filamentous fungi that cause superficial mycoses by invading the keratin of the nails, hair and skin of humans and animals. The result is a variety of clinical symptoms, including onychomycosis, a very common nail condition. Onychomycosis is mainly caused by *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton interdigitale* and rarely by other dermatophytes and fungi.

The identification of dermatophytes in daily practice is important, as an accurate diagnosis enables the selection of the correct (oral) antifungal treatment and avoids (long-term) treatment side effects. A cautious approach is particularly necessary in the elderly, children and pregnant women. In cases where systemic treatment is required, terbinafine is preferable, except during pregnancy and breast-feeding.

Diagnosis of onychomycosis often relies on culture of these dermatophytes and direct microscopic examination. However, identification of specific dermatophyte species is highly complex and dermatophytes are slow-growing and often contaminated by other fungi. The use of real-time polymerase chain reaction (PCR) can overcome these problems by enabling rapid identification of the most common dermatophyte infections in nails, enabling accurate and rapid treatment of onychomycosis.

2. Intended use

The EurobioPlex DermaScreen (EBX-073) is a qualitative, real-time multiplex PCR for the detection of clinically relevant dermatophytes and the detection of *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton interdigitale* from extracted DNA. Extracted DNA is the starting material used for detection.

EBX-073 has been validated on the following type of sample:

- Nails

The EurobioPlex DermaScreen test aids in the diagnosis of dermatophyte infections of the nail. The diagnosis must always be combined with other diagnostic and clinical data.

Identification of dermatophytes in daily practice is important as an accurate diagnosis is essential for selecting the correct antifungal treatment and avoid side-effects of long-term treatment. A cautious approach is especially needed in pregnant women for whom several antifungals – topical (miconazole) and oral (terbinafine) – should be avoided during pregnancy and lactation, due to the potential toxicity.

The EurobioPlex DermaScreen test is an *in vitro* medical diagnostic device, it should be used by qualified medical biology analysis laboratory personnel. It should not be recycled after use.

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

3. Symbols

	Reference
	Lot number
	Limit of storage temperature
	Expiry date
	Content sufficient for « N » reactions
	Manufacturer
	CE marked product
	<i>In Vitro</i> Diagnosis Medical Device
	Instructions for use
	Do not use if packaging is damaged
	Keep away from light
	Attention

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

4. Principle

The targets detected by the EurobioPlex DermaScreen kit are described in Table 1.

The kit contains an oligomix containing primers and probes specific for the detection of dermatophyte species, which must be used in combination with the polymerase enzyme to enable amplification of the specific DNA. Amplified DNA is visualized by hydrolysis of the fluorescently-labelled probes in the oligomix and provides a specific semi-quantitative signal on a real-time PCR instrument. Detection of the amplified fragments is performed by fluorescence detection in the PCR instrument using the channels indicated in Table 2.

An inhibition control (IC) is provided to monitor variations that may occur during DNA extraction from nail samples using the DermaExtract kit (EBE-077). This allows confirmation that a negative sample is a true negative or the result of ineffective DNA extraction or PCR failure.

A positive control (PC) is also included in the kit and can be used in every PCR run. Signals should be observed in all four detection channels: FAM, HEX, Texas Red and Cy5.

The system is not automated. It is the user's responsibility to use equipment other than those validated (front page of this IFU), and in this case, performance is not guaranteed.

Table 1 : Target detection by fluorophores

Target	Fluorophore	Excitation	Emission
<i>Pan-dermatophytes (ITS)</i>	FAM	495 nm	515 nm
<i>Trichophyton rubrum/ Trichophyton soudanense (ITS)</i>	HEX	535 nm	555 nm
<i>Trichophyton interdigitale/Trichophyton mentagrophytes (ITS)</i>	Texas Red	585 nm	605 nm
Inhibition control	Cy5	650 nm	670 nm

ITS : Internal Transcribed Spacer DNA

Table 2 : Equivalent channels of other thermocyclers

		Channels			
CFX 96/ CFX Opus/LC Pro/ QuantStudio 6*		FAM	HEX	Texas Red	Cy5
QuantStudio 5/7		FAM	VIC	ROX	Cy5
LC480 II	Excitation (nm)	465	533	533	618
	Emission (nm)	510	580	610	660
MIC/Rotor-Gene Q*		Green	Yellow	Orange	Red

*These PCR instruments were not initially validated and require customers validation.

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

5. Content of the kit

The EurobioPlex DermaScreen real-time PCR kit is ready to use and contains the necessary reagents and enzymes for the detection of these fungi (Table 3).

Table 3 : Content of the kit

Cap colour	Kit contents	25 reactions	50 reactions	100 reactions	200 reactions	400 reactions	600 reactions	Reconstitution
Red	Enzymes	275 µL	550 µL	1100 µL	2x 1100 µL	4x 1100 µL	6x 1100 µL	Ready to use
Transparent	Oligomix*	150 µL	275 µL	550 µL	1100 µL	2x 1100 µL	3x 1100 µL	Ready to use
Yellow	PC (Positive Control)	150 µL	275 µL	550 µL	1100 µL	2x 1100 µL	3x 1100 µL	Ready to use
Blue	NC-H2O (molecular biology grade water)	1000 µL	1000 µL	1000 µL	1000 µL	2x 1000 µL	2x 1000 µL	Ready to use
White	IC-PCR (Armored DNA) (inhibition control)	290 µL	575 µL	1150 µL	2 x 1150 µL	4 x 1150 µL	6x 1150 µL	Ready to use

*Oligomix: contains the primers and probes for the 3 targets and for the inhibition control

6. Storage

All the reagents must be stored between -15°C and -22°C.

All reagents can be used up to the expiration date indicated on the kit label.



Sensitivity may be reduced if kit components undergo multiple freeze/thaw cycles. The kit may be used for a maximum of 5 freeze/thaw cycles.

7. Materials required but not provided

- Biological cabinet/ PCR-/UV-cabinet
- Calibrated Real-time PCR instrument
- Centrifuge for microtubes
- Vortex
- 96-wells plates and appropriate seals / tubes for real-time PCR reaction (MIC PCR)
- Micropipettes
- DNase-free and RNase-free filter tips for micropipettes
- Sterile microtubes
- Gloves (talc-free)

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

8. Real-time PCR instrument

The EurobioPlex DermaScreen has been developed and validated for use on the following real-time PCR instruments:

- CFX96™ Real Time PCR detection system (Bio-Rad) with analysis on the CFX Maestro versions 1.1 and 2.3 (Bio-Rad) software and with the CFX Manager version 3.1 (Bio-Rad)
- CFX Opus 96 Real Time PCR detection system (Bio-Rad) with analysis on the CFX Maestro versions 1.1 and 2.3 (Bio-Rad) software and with the CFX Manager version 3.1 (Bio-Rad)
- QuantStudio 5/7 Pro (Thermofisher) with analysis on the Design and Analysis version 2.7.0 (Thermofisher) software
- LC480 II (Roche) with analysis on the LightCycler 480 II version 1.5.1 (Roche) software
- LC PRO (Roche) with analysis on the LightCycler Pro version 1.0 (Roche) software
- MIC (Bio Molecular Systems) with analysis on the MIC PCR version 2.12.6 (Bio Molecular Systems) software

9. Cautions and notes



Read these instructions carefully before starting the procedure

- This experiment must be carried out by qualified laboratory employees.
- When conducting dermatophyte screening in laboratories, adherence to both local and national biosafety regulations is critical to ensure safety and compliance.
- Ensure that instruments have been installed, calibrated and maintained in accordance with the manufacturer's recommendations.
- It is the user's responsibility to use equipment other than that validated, in which case performance is not guaranteed.
- Clinical samples should be considered as potentially infectious material and should be prepared under a laminar flow hood.
- Experiments must be carried out in accordance with good laboratory practice.
- Do not use this kit after the expiration date, indicated on the kit label.
- The kit is shipped on dry ice, and kit components must arrive frozen. If one or more components arrive thawed, or if tubes have been damaged in transit, contact Eurobio Scientific.
- Avoid multiple freeze/thaw cycles of reagents, as this may lead to a decrease in test sensitivity.
- Once reagents have thawed, centrifuge tubes briefly before use.

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

- The use of ice or an ice rack is recommended during preparation of the reactions in the event of long delays due, for example, to a large number of samples to be processed or high temperatures.
- Do not combine reagents of different DermaScreen lot numbers in an experiment.
- It is recommended to define three distinct work areas:
 1. DNA extraction or adding DNA targets to the reaction mixture
 2. Preparation of the reaction mixture
 3. Amplification/detection of the amplified products
- The fluorescent probes in the oligomix are sensitive to light. Prolonged exposure of the oligomix to light should be minimized and limited to the time necessary for preparation of the reagents.
- Pipettes, reagents and other working materials must not circulate between these areas.
- It is recommended to open and handle the positive control separately from the biological samples to be tested, and other kit components, to avoid cross-contamination.
- Wear separate labcoats and gloves (talc-free) in each work area.
- Particular care must be taken to maintain the purity of reagents and reaction mixtures.
- The EBE-077 extraction kit is recommended for DNA extraction.
- It is the user's responsibility to use an alternative extraction method, in which case performance is not guaranteed.
- Use DNase-free filter tips for micropipettes, RNase-free and DNase-free.
- Do not pipette by mouth. Do not eat, drink or smoke in the laboratory.
- Do not open PCR plates or tubes after PCR amplification to avoid aerosols.
- The system is not automated. It is the user's responsibility to use equipment other than those validated, and in this case performance is not guaranteed.
- All samples must be treated as potentially infected with the fungi of interest and local biosafety regulations must be followed.

10. Procedure

10.1 Sample collection

- Transfer small nail parts to sterile 1.5 mL tubes with safety lock before proceeding with DNA extraction. The internal control (IC) from the extraction kit must be used in the DNA-extraction procedure.
- It is the responsibility of the user to collect, transport and store samples before starting with the DNA-extraction of the nails
- The nail samples can be stored at room temperature.

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

Caution	
	<ul style="list-style-type: none">◇ The user may refer to the recommendations issued by the World Health Organization or the Haute Autorité de Santé for the proper storage of samples.◇ Extracted DNA should be stored at -20°C up to 24 months.◇ The transport of clinical samples is subject to local regulations for the transport of infectious agents.

10.2 DNA Extraction

The DermaXtract kit (EBE-077) is recommended for extraction of nail samples. The exogenous inhibition control must be added at the time of extraction, according to the instructions in the EBE-077 manual. The inhibition control (armored DNA) is a DNA sequence in a protein coat and is used to differentiate true negative samples from negative samples resulting from inefficient DNA extraction or PCR failure. Add 10 µl per nail sample when using the EBE-077 extraction procedure.

It is the user's responsibility to use an alternative extraction method, in which case performance is not guaranteed.

For high-throughput extraction of samples, automation can be used. We recommend using the Qiacube (Qiagen) extraction system which offers identical performances as the DermaXtract kit (tested on 55 *T. rubrum* samples, 10 *T. interdigitale* samples and 14 samples negative for dermatophytes).

10.3 Real-time PCR

General remarks :

- Ensure reagents are completely thawed.
- Briefly vortex the tubes containing the reagents, then centrifuge briefly.
- To check that the qPCR is working correctly, it is necessary to include the positive control, as well as the negative control (water supplied = NC-H₂O) in each run.
- The positive control is a synthetic double-stranded DNA containing the regions targeted by the oligomix. No extraction is required. It should be handled with care to avoid contamination.
- Ensure that the correct (skirted/non-skirted) qPCR plates are used for each type of instrument. White plates must be used in the CFX instruments (CFX 96, CFX Opus).
- An overview of the PCR preparation is provided in the figure below

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

Procedure overview :

1 – PREPARATION OF THE MASTERMIX (AREA 1)

Number of reactions	N+3
Enzyme mix	(N+3) x 10 µL
Oligomix	(N+3) x 5 µL
Total volume Mastermix	(N+3) x 15 µL



2 - PREPARATION OF THE REACTIONS (AREA 2)

Sample

15 µL Mastermix
+
5 µL DNA sample

Positive Control

15 µL Mastermix
+
5 µL PC

Negative Control

15 µL Mastermix
+
5 µL molecular biology graded water (NC-H₂O)

- Seal the PCR plate with a suitable adhesive film before transferring it to the real-time PCR instrument.
- Briefly centrifuge the plate before transferring it to the real-time PCR instrument.



3 – REAL TIME PCR INSTRUMENT (AREA 3)

Program	Temperature	Duration	Cycle(s)	
Denaturation	95°C	2 mins	1	-
Amplification	95°C	10 secs	44	-
	62°C	30 secs		Fluorescence acquisition*

*Detection in all channels must be selected

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

11. Validation of the PCR run

11.1 Validation of the PCR run on CFX 96 and CFX Opus (Bio-Rad)

Post-acquisition data analysis on a CFX96 or CFX Opus (Bio-Rad) PCR instrument must be carried out using CFX Manager software version 3.1 (Bio-Rad) or CFX Maestro software version 1.1 or version 2.3 (Bio-Rad).

Run analysis must be performed on the data file with the .pcrd suffix. On the CFX 96, this is the format automatically saved at the end of the run. On the CFX Opus, the .zpcr file automatically generated at the end of the run must first be opened using the CFX Manager or CFX Maestro software, then saved in .pcrd format for analysis.

The “**Baseline Subtracted Curve Fit**” option must be applied in the “Settings” tab: click on the “Settings” tab, then on “Baseline Setting” and on “Baseline Subtracted Curve Fit”.

It is recommended to perform the analysis on a linear scale.

Ct values are determined using the regression Ct determination mode: click on the “Settings” tab, then on “Cq determination mode” and on “**Regression**”. This enables automatic determination of Ct values.

For the run to be valid, the Ct values obtained for the positive control must correspond to the values shown in Table 4. **The negative control must be negative in all detection channels.**

Table 4: Validation of the run on CFX96 and CFX Opus

Positive Control	
FAM	Ct ≤ 32
HEX	Ct ≤ 34
Texas Red	Ct ≤ 33
Cy5	Ct ≤ 31

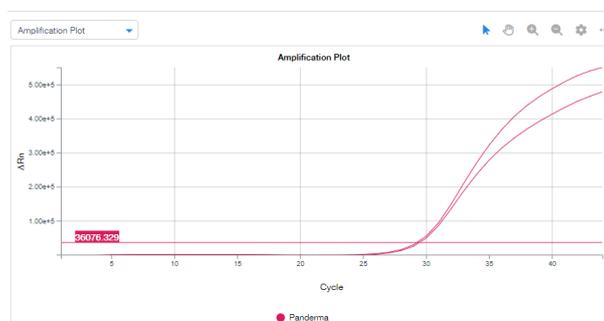
11.2 Validation of the PCR run on QuantStudio 5/QuantStudio 7 (ThermoFisher)

Post-acquisition data analysis should be performed on the data file with the .eds suffix, which is automatically generated at the end of the run, using the Design and Analysis software version 2.7.0.

The analysis must be performed on each channel independently by linear scaling on the amplification curves: in the “Quality Check” tab, select the “Amplification plot” option from the drop-down menu. Select the settings icon at the top right of the amplification curves to select “Linear” for the **Y scale** parameter.

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

The threshold for each fluorophore should then be set at the inflection point of the curve. The inflection point is the point at which a change in the direction of curvature occurs. It can be defined by tracing a straight line on the linear phase: the inflection point is the point where this straight line crosses the curve. An example is shown in the following figure.



For the run to be valid, the Ct values obtained for the positive control must correspond to the values shown in the following table (Table 5). **The negative control must be negative in all detection channels.**

Table 5: Validation of the run on QuantStudio5/QuantStudio7

Positive control	
FAM	Ct ≤ 33
HEX	Ct ≤ 36
Texas Red	Ct ≤ 34
Cy5	Ct ≤ 33

11.3 Validation of the PCR run on LC480 II (Roche)

On the LC480II, a cross-talk can be observed between the 533-580/533-610 channels and between the 533-610/618-660 channels. To prevent this from happening, a 4-channel (FAM, HEX, Texas Red and Cy5 - or equivalent) colour compensation kit can be used.

Post-acquisition data analysis should be performed on the data file with the .ixo suffix, which is automatically generated at the end of the run, using LightCycler 480 software version 1.5.1.

To generate the analysis, select the “Analysis” tab. Depending on whether a colour compensation kit has been used or not, either select the “Abs/2nd derivative max” option (without colour compensation) or the “Color Comp” option (with colour compensation). Each channel must then be analysed independently and Ct values are calculated automatically by clicking on the “Calculate” button.

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

For the run to be valid, the Ct values obtained for the positive control must correspond to the values shown in the following table (Table 6). **The negative control must be negative in all detection channels.**

Table 6: Validation of the run on LC480 II

Positive control	
FAM	Ct ≤ 33
HEX	Ct ≤ 34
Texas Red	Ct ≤ 34
Cy5	Ct ≤ 33

Whether a colour compensation kit has been used or not does not change the analytical sensitivity in each of the specific channels and the Ct values remain comparable. However, data interpretation depends on whether a colour compensation kit has been used or not and details regarding data interpretation can be found in section 12. Data analysis and interpretation.

11.4 Validation of the PCR run on LC Pro (Roche)

Data analysis on the LC PRO (Roche) is carried out using the LightCycler® PRO (v1.0) software. Post-acquisition data can be imported into the software by creating a new project and then selecting the runtime file stored on USB or on the server. In the plate configuration section, sample IDs and sample roles can be indicated, including unknowns, positive matrix control (PTC) and no matrix control (NTC). Note that only one PTC and one NTC can be included per analysis.

Perform an analysis on a single plate, select qualitative analysis and define the channels (FAM, HEX, Texas Red and Cy5). In the "Define parameters" section, target information can be provided and color compensation can be selected for all detection channels. Inhibition control can be selected for the Cy5 detection channel. The 'Positive target confirmation without internal control' option can be selected for the FAM, HEX and Texas Red detection channels. In the 'Edit sample information' section, you can delete unused wells.

For the run to be valid, the Ct values obtained for the positive control must correspond to the values shown in the following table (Table 7). **The negative control must be negative in all detection channels.**

Table 7: Validation of the run on LC Pro

Positive Control	
FAM	Ct ≤ 34
HEX	Ct ≤ 36
Texas Red	Ct ≤ 34

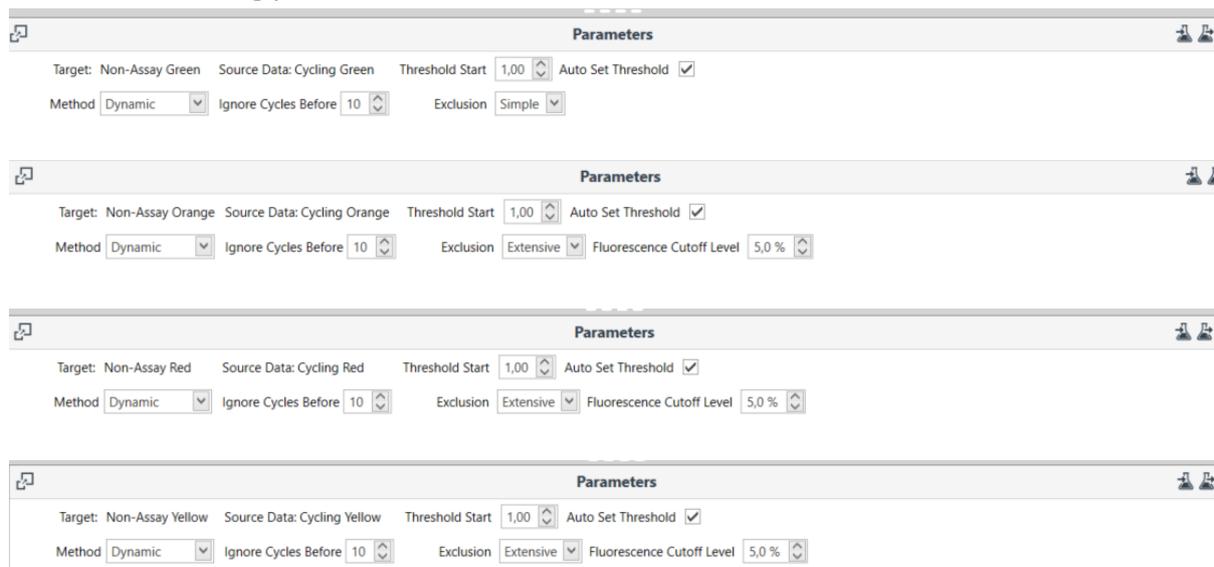
Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

Cy5	Ct ≤ 34
-----	---------

11.5 Validation of the PCR run on the MIC (Biomolecular systems)

Post-acquisition data analysis should be performed on the data file with the .micrun suffix, which is automatically generated at the end of the run, using micpcr software version 2.12.6.

The analysis must be performed independently on each channel. In the “Analysis” section, select the following parameters:



For the run to be valid, the Ct values obtained for the positive control must correspond to the values shown in the following table (Table 8). **The negative control must be negative in all detection channels.**

Table 8: Validation of the run on the MIC

Positive Control	
FAM	Ct ≤ 32
HEX	Ct ≤ 34
Texas Red	Ct ≤ 33
Cy5	Ct ≤ 32

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

12. Data analysis and interpretation

Data analysis and interpretation is based on the signal measurements recorded for each channel of the DermaScreen kit, as detailed in Table 9, which lists the corresponding dermatophyte species and controls.

Table 9: Data interpretation

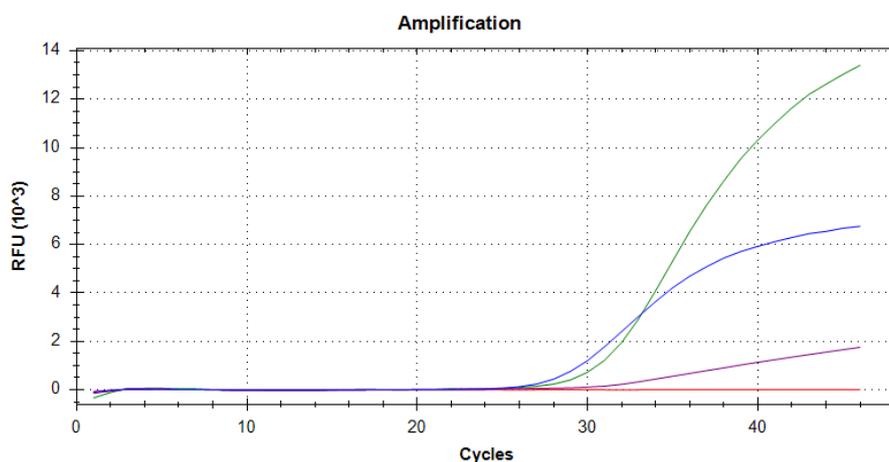
Data interpretation EBX-073 DermaScreen (CFX96, CFX Opus, QuantStudio5/7, LC480 with colour compensation, LC PRO, MIC)				
FAM	HEX	TexasRed	Cy5	Result
Pos	Neg	Neg	Pos/Neg	Positive for dermatophytes species (1)
Pos*	Neg	Pos	Pos/Neg	<i>Trichophyton interdigitale</i> / <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (2)
Pos*	Pos	Neg	Pos/Neg	<i>Trichophyton rubrum</i> / <i>Trichophyton soudanense</i> (3)
Neg	Neg	Neg	Pos	Negative for dermatophytes species (5)
Neg	Neg	Neg	Neg	Invalid
Data interpretation EBX-073 DermaScreen (LC480 II without colour compensation)				
FAM	HEX	TexasRed	Cy5	Result
Pos	Neg	Neg	Pos/Neg	Positive for dermatophytes species (1)
Pos*	Neg	Pos	Pos/Neg	<i>Trichophyton interdigitale</i> / <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (2)
Pos*	Pos	Pos	Pos/Neg	<i>Trichophyton rubrum</i> / <i>Trichophyton soudanense</i> (3) (4)
Neg	Neg	Neg	Pos	Negative for dermatophytes species (5)
Neg	Neg	Neg	Neg	Invalid

*A negative FAM/panderma signal with a HEX/*T. rubrum* or Texas Red/*T.interdigitale* signal can occur but these are very low dermatophyte concentrations.

- (1) The FAM probe detects all dermatophyte species, including all clinically relevant *Trichophyton* spp, *Microsporum* spp, *Epidermophyton* spp, *Nannizzia* spp and *Paraphyton* spp. If only the FAM probe is positive, it will be reported as “dermatophyte positive” but not as *T. interdigitale* or *T. rubrum*.
- (2) The Texas Red probe detects also *T. mentagrophytes* (all subtypes), *T. indotineae*, *T. schoenleinii* and *T. quinckeanum*. Last two species result in amplification with limited fluorescence. The clinical relevance in nails of other species compared to *T. interdigitale* species has not been established, particularly in Europe.
- (3) The HEX probe detects also *T. soudanense*, this dermatophyte is however observed predominantly in hair samples.
- (4) Spectral cross-talk is observed between the detection channels on the LC480 II PCR instrument. As a result, if no colour compensation kit is used, signals from the 533-580 detection channel (*T. rubrum*) will also be observed in the 533-610 detection channel (*T. interdigitale*). Also signals in 533-610 (*T. interdigitale*) can be observed in the 618-660 detection channel (Inhibition control). When signals are present in the 533-580 as well as the 533-610 detection channel, this must be interpreted as *T. rubrum* only (considering a double infection as very rare). Important note: always compare amplification curves of samples to the PC signal for correct data analysis.
- (5) Inhibition control signals are only visible when the inhibition control is used during DNA extraction. The inhibition control is outperformed by high concentrations of dermatophyte DNA, resulting in a limited or absent Cy5 signal. The result is still valid.

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

An example of a CFX96 result is shown in the figure below. The sample is positive for *T. rubrum*. The green curve indicates a dermatophyte signal (FAM), the blue curve is a *T. rubrum* signal (HEX), the purple curve is a suppressed inhibition control signal (Cy5) and the *T. interdigitale* signal (TexasRed) is negative.



Limits of use and interpretation:

- Interpretation of results must take into account the possibility of false negatives and false positives.

False negatives may be due to :

- Inadequate sample collection or storage,
- Unsuitable extraction conditions or use of non-validated PCR instruments,
- Performance that does not comply with all the instructions in this manual.

False positives may be due to :

- Contamination due to mishandling of high-positive samples, positive control or PCR amplification products,
- Failure to follow the procedures described in this manual, in particular to avoid sources of contamination.

- All results must be interpreted by medical personnel in the context of the patient's clinical situation, history and symptoms.
- This test does not exclude the presence of pathogens other than those detected by this kit.
- Cross-reaction may occur (see Table 14), with other rare dermatophytes species, or almost exclusively present in other types of biological samples like hairs or skin.

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

- A negative result of this test does not absolutely exclude a possible infection with the fungi detected in this kit.

13. Performances analysis

Analytical sensitivity

A Probit analysis to determine the 95% cut-off per target was carried out using a dilution series of synthetic target DNA. The results for each of the kit's specific targets (*T. rubrum* and *T. interdigitale*) and per instrument are presented in the tables below:

Table 10: Analytical sensitivity (95% cut-off) in copies/μL

Analytical sensitivity (95% cut-off) in copies/μL						
Specific targets	CFX 96 (Bio-Rad)	CFX Opus (Bio-Rad)	QuantStudio 7 (ThermoFisher)	LC 480 II (Roche)	LC Pro (Roche)	MIC (Biomolecular systems)
<i>T. rubrum</i> (HEX)	0,97	1,19	0,84	0.51	0,88	1.53
<i>T. interdigitale</i> (Texas Red)	1	8,83	1,32	13	1,03	12.5

Signal variability on specific HEX and Texas Red channels

- Intra-experimental variability : CV (Coefficient of Variation) intra-lot

Table 11: CV intra-lot

CV intra-lot (%)						
Specific targets	CFX 96 (Bio-Rad)	CFX Opus (Bio-Rad)	QuantStudio 7 (ThermoFisher)	LC 480 II (Roche)	LC Pro (Roche)	MIC (Biomolecular systems)
<i>T. rubrum</i> (HEX)	3,46	3,23	1,65	1,54	0,91	1,05
<i>T. interdigitale</i> (Texas Red)	5,69	2,11	0,76	3,01	1,29	0,93

- Inter-lots variability : CV inter-lot

Table 12: CV inter-lot

CV inter-lot (%)						
Specific targets	CFX 96 (Bio-Rad)	CFX Opus (Bio-Rad)	QuantStudio 7 (ThermoFisher)	LC 480 II (Roche)	LC Pro (Roche)	MIC (Biomolecular systems)
<i>T. rubrum</i> (HEX)	3,04	2,29	1,76	1,95	1,08	2,2
<i>T. interdigitale</i> (Texas Red)	5,75	1,44	1,42	2,14	1,16	2,74

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

Clinical sensitivity and specificity

The clinical specificity and sensitivity was determined based on the testing of clinical nail samples in a routine setting. All samples were first extracted with the EurobioPlex DermaXtract kit (EBE-077) before analysed with the EurobioPlex DermaScreen real-time PCR using the CFX96 and the LC480.

Table 13: Clinical sensitivity and specificity

	Molecular reference methods (n)	DermaScreen (n)	Sensitivity (%) (95% CI*)	Specificity (%) (95% CI*)
<i>T. rubrum</i>	121	120	99,2 (98,224-100,208)	
<i>T. interdigitale</i>	26	25	96,2 (95,312-97,235)	
Negative	68	62		91,2 (90,356-92,179)

*CI: confidence interval

Analytical specificity

The analytical specificity was determined by testing the confirmed genomic DNA of 17 dermatophyte strains but also fungal and bacterial strains which can be present on nails or in the environment. All strains were tested on the CFX96 and listed in the table below. Additionally, all primer and probe sequences were compared to sequences published in Genbank to check for possible homologies which might result in unwanted signals.

Table 14: Analytical specificity

Species	Result DermaScreen		
	Panderna (FAM)	<i>T. rubrum</i> (HEX)	<i>T. interdigitale</i> (TexasRed)
<i>T. mentagrophytes</i> Thailand*	Positive	ND	Positive
<i>T. indotineae</i> *	Positive	ND	Positive
<i>T. quinckeanum</i> **	Positive	ND	Positive
<i>T. schoenleinii</i> **	Positive	ND	Positive
<i>T. interdigitale</i>	Positive	ND	Positive
<i>T. mentagrophytes</i> *	Positive	ND	Positive
<i>T. rubrum</i>	Positive	Positive	ND
<i>T. tonsurans</i>	Positive	ND	ND
<i>T. violaceum</i>	Positive	ND	ND
<i>T. soudanense</i> ***	Positive	Positive	ND
<i>T. verrucosum</i>	Positive	ND	ND
<i>P. cookei</i>	Positive	ND	ND
<i>E. floccosum</i>	Positive	ND	ND

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

<i>M. canis</i>	Positive	ND	ND
<i>M. audouinii</i>	Positive	ND	ND
<i>T. benhamiae</i>	Positive	ND	ND
<i>N. gypsea</i>	Positive	ND	ND
<i>C. albicans</i>	ND	ND	ND
<i>C. parapsilosis</i>	ND	ND	ND
<i>M. guilliermondii</i>	ND	ND	ND
<i>F. solani</i>	ND	ND	ND
<i>A. fumigatus</i>	ND	ND	ND
<i>R. oryzae</i>	ND	ND	ND
<i>S. brevicaulis</i>	ND	ND	ND
<i>T. marneffeii</i>	ND	ND	ND
<i>S. aureus</i>	ND	ND	ND
<i>S. epidermidis</i>	ND	ND	ND
Humane DNA	ND	ND	ND

**T. mentagrophytes* species including the subtype originating from Thailand but also the *T. indotinaea* result in a signal in the TexasRed detection channel. These closely related species are not considered typical nail pathogens

***T. quinckeanum* and *T. schoenleinii* are also detected in TexasRed with the *T. interdigitale* probe but the signals are much lower. Moreover, note that both species are almost never nail pathogens and thus not clinically relevant to EBX-073 which is validated only on nails.

****T. soudanense* is also detected in HEX with the *T. rubrum* probe but this is rarely a nail pathogen compared to *T. rubrum*, particularly in Europe.

Interfering substances

In total four interfering substances likely to be found in the samples were tested for their possible effect on kit efficacy: clear nail varnish, red nail varnish, miconazolnitate and terbinafine, both of which are commonly found in anti-fungal creams.

None of these 4 substances interfered with the extraction reaction or with the PCR.

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

14. Bibliography

1. Irene Weitzman, Richard C. Summerbell, The Dermatophytes, *Clinical Microbiology Reviews*, Apr. 1995, p. 240-259 Vol. 8, No. 2
2. Dyanne P. Westerber, Michael J. Voyack, Onychomycosis: Current Trends in Diagnosis and Treatment, *Am Fam Physician*. 2013;88(11):762-770
3. Yvonne Gräser, Ditte M L Saunte, A Hundred Years of Diagnosing Superficial Fungal Infections: Where Do We Come From, Where Are We Now and Where Would We Like To Go?, *Acta Derm Venereol* 2020 Apr 20;100(9)
4. Pietro Nenoff, Dieter Reinel, Peter Mayser, Dietrich Abeck, Guntram Bezdold, Philipp P. Bosshard, Jochen Brasch, Georg Daeschlein, Isaak Effendy, Gabriele Ginter-Hanselmayer, Yvonne Gräser, Gudrun Hamm, Ulrich Hengge, Uta-Christina Hipler, Peter Höger, Alexandra Kargl, Annette Kolb-Mäurer, Constanze Krüger, Bartosz Malisiewicz, Johannes Mayer, Hagen Ott, Uwe Paasch, Martin Schaller, Silke Uhrlaß, Miriam Zidane *Guideline onychomycosis, JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft: May, 2023, Volume 21, Issue 6, Pages: 571-710*
5. A.K. Gupta, M. Paquet, F. Simpson, A. Tavakkol, Terbinafine in the treatment of dermatophyte toenail onychomycosis: a meta-analysis of efficacy for continuous and intermittent regimens, *Volume 27, Issue 3, March 2013, Pages 267-272*
6. Subuhi Kaul, Savita Yadav, Sunil Dogra, Treatment of Dermatophytosis in Elderly, Children, and pregnant women, *Indian Dermatol Online J* 2017 ;8 :310-8
7. Pilmis B, Julien V, Sobel J, Lecuit M, Lotholary O, Charlier C, Antifungal drugs during pregnancy: An updated review, *J Antimicrob Chemother* 2015;70:14-22
8. Murase JE, Heller MM, Butler DC, Safety of dermatologic medications in pregnancy and lactation: Part I. Pregnancy, *J Am Acad Dermatol* 2014;70:401-159.
9. Patel VM, Schwartz RA, Lambert WC, Topical Antiviral and Antifungal Medications in Pregnancy: A Review of Safety Profiles, *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2017;27
10. Christina Forsberg*, Lina Pettersson, Lina Boiso, The effect of freezing, thawing and long-term storage on forensic DNA extracts. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 8(2022)77–78

15. Quality Control

In accordance with Eurobio's ISO EN 13485-2016:A21 certified quality management system, each batch of EurobioPlex DermaScreen is tested according to predefined specifications to guarantee consistent product quality.

16. Waste disposal

Dispose of all waste in accordance with DASRI legislation or to the local applicable regulations.

Instructions for Use EurobioPlex DermaScreen

17. Incident report

Any serious incident involving the reagents is reported to Eurobio Scientific and to the competent authority of the Member State in which the user and/or patient is established.

18. Technical assistance

For assistance with our products, please contact our technical support.

Eurobio Scientific's customer service can be contacted by e-mail at adv@eurobio-scientific.com or by phone at +33 (0)1.69.79.64.80



7, avenue de Scandinavie
ZA de Courtabœuf
91940 Les Ulis
FRANCE

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen



EurobioPlex

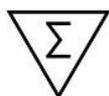
DermaScreen

PCR EN TEMPS REEL

Pour la PCR **qualitative** en temps réel

REF

EBX-073-25 /EBX-073-50/EBX-073-100/EBX-073-200/EBX-073-400/EBX-073-600



25/50/100/200/400/600 réactions



Référence EBX-073 Version 1.06 du 04/03/2026

Validé sur :

- CFX96™ Real Time PCR detection system (Bio-Rad) avec analyse sur le logiciel CFX Maestro versions 1.1 et 2.3 (Bio-Rad) ou sur le logiciel CFX Manager version 3.1 (Bio-Rad)
- CFX Opus 96 Real Time PCR detection system (Bio-Rad) avec analyse sur le logiciel CFX Maestro version 1.1 et 2.3 (Bio-Rad) ou sur le logiciel CFX Manager version 3.1 (Bio-Rad)
- QuantStudio 5/7 Pro (Thermofisher) avec analyse sur le logiciel Design and Analysis version 2.7.0 (Thermofisher)
- LC480 II (Roche) avec analyse sur le logiciel LightCycler® 480 SW version 1.5.1 (Roche)
- LC Pro (Roche) avec analyse sur le logiciel LightCycler Pro version 1.0 (Roche)
- MIC (Biomolecular Systems) avec analyse sur le logiciel micpcr version 2.12.6 (Biomolecular Systems)



Notice d'utilisation

Disponible sur demande à l'adresse info@eurobio-scientific.com

Le Résumé des Caractéristiques de Sécurité et Performance (RCSP) sera mis à disposition par l'organisme notifié certificateur sur EUDAMED une fois ce dernier fonctionnel. Il peut également être obtenu sur demande.

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

ENGLISH.....1

FRANÇAIS.....22

Table des matières

1.	Informations générales.....	24
2.	Destination du dispositif.....	24
3.	Symboles.....	25
4.	Principe.....	26
5.	Composants du kit.....	27
6.	Conservation et stockage.....	27
7.	Matériel requis non fournis.....	27
8.	Instrument de PCR en temps réel.....	28
9.	Mises en garde et précautions.....	28
10.	Protocole.....	29
11.	Validation de l'expérimentation.....	32
12.	Analyse des données et interprétation.....	37
13.	Analyse des performances.....	39
14.	Bibliographie.....	42
15.	Contrôle qualité.....	42
16.	Elimination des déchets.....	42
17.	Déclaration d'incident.....	42
18.	Assistance technique.....	43

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

1. Informations générales

Les dermatophytes sont des champignons filamenteux communs qui provoquent des mycoses superficielles en envahissant la kératine des ongles, des cheveux et de la peau des humains et des animaux. Il en résulte divers symptômes cliniques, dont l'onychomycose, une affection très courante des ongles. L'onychomycose est principalement causée par *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton interdigitale* et rarement par d'autres dermatophytes et champignons.

L'identification des dermatophytes dans la pratique quotidienne est importante, car un diagnostic précis permet de choisir le bon traitement antifongique (oral) et d'éviter les effets secondaires d'un traitement (à long terme). Une approche prudente est particulièrement nécessaire chez les personnes âgées, les enfants et les femmes enceintes. Dans les cas où un traitement systémique est nécessaire, la terbinafine est préférable, sauf pendant la grossesse et l'allaitement.

Le diagnostic de l'onychomycose repose souvent sur la culture de ces dermatophytes et sur un examen direct au microscope. Cependant, l'identification d'espèces spécifiques de dermatophytes est très complexe et la croissance des dermatophytes est lente et souvent contaminée par d'autres champignons. L'utilisation de la réaction en chaîne de la polymérase en temps réel (PCR) peut surmonter ces problèmes en permettant l'identification rapide des infections dermatophytes les plus courantes dans les ongles, ce qui permet un traitement précis et rapide de l'onychomycose.

2. Destination du dispositif

L'EurobioPlex DermaScreen (EBX-073) est une PCR multiplex qualitative en temps réel pour la détection des dermatophytes cliniquement pertinents et la détection de *Trichophyton rubrum* et *Trichophyton interdigitale* à partir d'ADN extrait. L'ADN extrait est le matériau de départ utilisé pour la détection.

EBX-073 a été validé sur le type d'échantillon suivant :

➤ Ongles

Le test EurobioPlex DermaScreen facilite le diagnostic des infections à dermatophytes de l'ongle. Le diagnostic doit toujours être associé à d'autres données diagnostiques et cliniques.

L'identification des dermatophytes dans la pratique quotidienne est importante car un diagnostic précis est essentiel pour sélectionner le traitement antifongique adéquat et éviter les effets secondaires d'un traitement à long terme. Une approche prudente est particulièrement nécessaire chez les femmes enceintes pour lesquelles certains antifongiques - topiques (miconazole) et oraux (terbinafine) - doivent être évités pendant la grossesse et l'allaitement car ils peuvent avoir un effet toxique sur le fœtus.

Le test EurobioPlex DermaScreen est un dispositif médical de diagnostic *in vitro*, il doit être utilisé par du personnel de laboratoire d'analyse de biologie médicale qualifié. Il ne doit pas être recyclé après utilisation.

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

3. Symboles

	Référence
	Numéro de lot
	Limite de température
	Date d'expiration
	Contenu suffisant pour « N » réactions
	Fabricant
	Produit marqué CE
	Dispositif Médical de Diagnostic <i>in vitro</i>
	Mode d'emploi
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé
	Conserver à l'abri de la lumière du soleil
	Attention

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

4. Principe

Les cibles détectées par le kit EurobioPlex DermaScreen sont décrites dans le tableau 1.

Le kit contient un oligomix contenant des amorces et des sondes spécifiques pour la détection des espèces de dermatophytes, qui doit être utilisé avec l'enzyme polymérase pour permettre l'amplification de l'ADN spécifique. L'ADN amplifié est visualisé par l'hydrolyse des sondes marquées par fluorescence dans l'oligomix et fournit un signal spécifique semi-quantitatif sur l'instrument PCR. La détection des fragments amplifiés est effectuée par un fluorimètre dans l'instrument PCR en utilisant les canaux indiqués dans le tableau 2.

Un contrôle d'inhibition (CI) est fourni et permet de surveiller les variations qui peuvent se produire pendant l'extraction de l'ADN des échantillons d'ongles avec le kit DermaXtract. Cela permet de confirmer qu'un échantillon négatif est un vrai négatif ou le résultat d'une extraction d'ADN inefficace ou d'un échec de la PCR.

Un contrôle positif (PC) est également présent dans le kit et peut être utilisé dans chaque cycle de PCR. Des signaux doivent être observés dans les quatre canaux de détection : FAM, HEX, Texas Red et Cy5.

Le dispositif n'est pas automatisé. Il est de la responsabilité de l'utilisateur d'utiliser un autre équipement que ceux validés, et dans ce cas, les performances ne sont pas garanties.

Tableau 1 : Détection des cibles selon les fluorophores

Cible	Fluorophore	Excitation	Emission
Cible 1/ <i>Pan-dermatophytes (ITS)</i>	FAM	495 nm	515 nm
Cible 2/ <i>Trichophyton rubrum/Trichophyton soudanense (ITS)</i>	HEX	535 nm	555 nm
Cible 3/ <i>Trichophyton interdigitale/Trichophyton mentagrophytes (ITS)</i>	Texas Red	585 nm	605 nm
Contrôle Interne	Cy5	650 nm	670 nm

ITS : Internal Transcribed Spacer DNA

Tableau 2 : Canaux équivalents recommandés sur différents instruments de PCR

		Canaux			
CFX 96/ CFX Opus/ LC Pro/ QuantStudio 6*		FAM	HEX	Texas Red	Cy5
QuantStudio 5/7		FAM	VIC	ROX	Cy5
LC480 II	Excitation (nm)	465	533	533	618
	Emission (nm)	510	580	610	660
MIC/Rotor-Gene Q*		Vert	Jaune	Orange	Rouge

*Ces instruments PCR n'ont pas été validés et nécessitent une validation de la part des clients

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

5. Composants du kit

Le kit de PCR en temps réel EurobioPlex DermaScreen est prêt à l'emploi et contient les réactifs et les enzymes nécessaires pour la détection de ces champignons (Tableau 3).

Tableau 3: Composants du kit

Couleur du capuchon	Contenu du kit	25 réactions	50 réactions	100 réactions	200 réactions	400 réactions	600 réactions	Reconstitution
Rouge	Enzyme	275 µL	550 µL	1100 µL	2x 1100 µL	4x 1100 µL	6x 1100 µL	Prêt à l'emploi
Transparent	Oligomix*	150 µL	275 µL	550 µL	1100 µL	2x 1100 µL	3x 1100 µL	Prêt à l'emploi
Jaune	PC (Contrôle positif)	150 µL	275 µL	550 µL	1100 µL	2x 1100 µL	3x 1100 µL	Prêt à l'emploi
Bleu	NC-H2O (eau biologie moléculaire)	1000 µL	1000 µL	1000 µL	1000 µL	2x 1000 µL	2x 1000 µL	Prêt à l'emploi
Blanc	IC-PCR (Armored DNA) (contrôle d'inhibition)	290 µL	575 µL	1150 µL	2 x 1150 µL	4 x 1150 µL	6x 1150 µL	Prêt à l'emploi

*Oligomix: contient les amorces et sondes pour les 3 cibles et pour le contrôle interne

6. Conservation et stockage

Tous les réactifs doivent être stockés entre -15°C et -22°C.

Tous les réactifs peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du kit.



La sensibilité peut diminuer si les composants du kit subissent plusieurs cycles de congélation/décongélation. Le kit peut être utilisé pendant un maximum de 5 cycles de congélation et décongélation.

7. Matériel requis non fournis

- Hotte biologique
- Appareil de PCR temps réel
- Centrifugeuse pour microtubes
- Vortex
- Plaques / tubes pour réaction de PCR temps réel
- Micropipettes
- Embouts DNase-free et RNase-free à filtre pour micropipettes
- Microtubes stériles
- Gants (sans talc)

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

8. Instrument de PCR en temps réel

Le kit EurobioPlex DermaScreen a été développé et validé pour être utilisé avec les instruments de PCR en temps réel suivants :

- CFX96™ Real Time PCR detection system (Bio-Rad) avec analyse sur le logiciel CFX Maestro versions 1.1 ou 2.3 (Bio-Rad) ou sur le logiciel CFX Manager version 3.1 (Bio-Rad)
- CFX Opus 96 Real Time PCR detection system (Bio-Rad) avec analyse sur le logiciel CFX Maestro versions 1.1 ou 2.3 (Bio-Rad) ou sur le logiciel CFX Manager version 3.1 (Bio-Rad)
- QuantStudio 7 Pro (Thermofisher) avec analyse sur le logiciel Design and Analysis version 2.7.0 (Thermofisher)
- LC480 II (Roche) avec analyse sur le logiciel LightCycler 480 SW version 1.5.1 (Roche)
- LC Pro (Roche) avec analyse sur le logiciel LightCycler Pro version 1.0 (Roche)
- MIC (Biomolecular Systems) avec analyse sur le logiciel micpcr version 2.12.6 (Biomolecular systems)

9. Mises en garde et précautions



Lire attentivement ces instructions avant de débiter le protocole.

- Cette expérimentation doit être réalisée par des techniciens de laboratoire d'analyse de biologie médicale.
- La réglementation de biosécurité locale et nationale en vigueur pour le dépistage des dermatophytes doit être suivie scrupuleusement en toute circonstance, notamment dans des laboratoires et avec les équipements de laboratoire en accord.
- S'assurer que les instruments ont été installés, calibrés et maintenus en accord avec les recommandations du fabricant.
- Il est de la responsabilité de l'utilisateur d'utiliser un autre équipement que ceux validés, et dans ce cas, les performances ne sont pas garanties.
- Les échantillons cliniques doivent être considérés comme du matériel potentiellement infectieux et doivent être préparés sous une hotte à flux laminaire.
- Cette expérimentation doit être réalisée selon les bonnes pratiques de laboratoire.
- Ne pas utiliser ce kit après la date de péremption indiquée.
- Le kit est expédié sous carboglace, et les composants du kit doivent arriver congelés. Si un ou plus des composants arrive décongelé, ou si les tubes ont été endommagés pendant le transport, contacter Eurobio Scientifc.
- Eviter les cycles de congélation / décongélation des réactifs, cela peut conduire à une baisse de la sensibilité du test.
- Une fois les réactifs décongelés, centrifuger brièvement les tubes avant leur utilisation.
- L'utilisation de glace ou d'un bloc réfrigérant est conseillée en cas de longs délais du fait par exemple d'un important nombre d'échantillons à traiter ou de fortes températures.
- Ne pas combiner les réactifs de lots différents pour réaliser un test.
- Il est recommandé de définir trois zones de travail distinctes :

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

1. Isolation de l'ARN
 2. Préparation du mélange réactionnel
 3. Amplification/Détection des produits amplifiés
- Les sondes fluorescentes de l'oligomix sont sensibles à la lumière. L'exposition prolongée de l'oligomix à la lumière doit être réduite au minimum et limitée au temps nécessaire à la préparation des réactifs.
 - Les pipettes, les réactives et autres matériels de travail ne doivent pas circuler entre ces zones.
 - Il est recommandé d'ouvrir et de manipuler le contrôle positif à l'écart des échantillons biologiques à tester et des autres composants du kit afin d'éviter les contaminations croisées.
 - Porter des blouses et des gants (sans talc) distincts dans chaque zone de travail.
 - Une attention particulière doit être mise en œuvre pour conserver la pureté des réactifs et des mélanges réactionnels.
 - Il est recommandé d'utiliser le kit d'extraction EBE-077 pour l'extraction d'ADN.
 - Il est de la responsabilité de l'utilisateur d'utiliser une autre méthode d'extraction, et dans ce cas, les performances ne sont pas garanties.
 - Utiliser des embouts à filtre pour micropipettes, RNase-free et DNase-free.
 - Ne pas pipeter avec la bouche. Ne pas manger, ni boire ou fumer dans le laboratoire.
 - Ne pas ouvrir les plaques ou les tubes PCR après la réaction d'amplification afin d'éviter les aérosols.
 - Le dispositif n'est pas automatisé. Il est de la responsabilité de l'utilisateur d'utiliser un autre équipement que ceux validés, et dans ce cas, les performances ne sont pas garanties.
 - Tous les échantillons doivent être traités comme potentiellement infectés par les champignons concernés et les règlements locaux en matière de biosécurité doivent être respectés.

10. Protocole

10.1 Collecte des échantillons

- Transférer les petites parties d'ongles dans des tubes stériles de 1,5 ml munis d'un bouchon de sécurité avant de procéder à l'extraction de l'ADN. Le contrôle interne (CI) du kit d'extraction doit être utilisé dans la procédure d'extraction de l'ADN.
- Il revient à l'utilisateur de maîtriser ses propres conditions de collecte, transport, conservation et extraction des échantillons pour que l'extraction d'ADN par des systèmes adaptés produise des ADN de qualité.
- Les échantillons peuvent être conservés à température ambiante.

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

Attention	
	<ul style="list-style-type: none">◇ L'utilisateur peut se référer aux recommandations émises par l'Organisation Mondiale de la Santé ou par la Haute Autorité de Santé pour la bonne conservation des échantillons◇ L'ADN extrait doit être conservé à -20°C jusqu'à 24 mois.◇ Le transport des échantillons cliniques est soumis à la réglementation locale pour le transport des agents infectieux.

10.2 Extraction de l'ADN

Le kit DermaXtract (EBE-077) est recommandé pour l'extraction des échantillons d'ongles. Le contrôle d'inhibition exogène doit être ajouté au moment de l'extraction, conformément aux instructions de la notice de l'EBE-077. Le contrôle d'inhibition (armored DNA) est une séquence d'ADN dans une couche de protéine et est utilisé pour différencier les échantillons réellement négatifs des échantillons négatifs résultant d'une extraction d'ADN inefficace ou d'un échec de la PCR. Ajouter 10 µl par échantillon d'ongle lors de l'utilisation de la procédure d'extraction EBE-077.

Il est de la responsabilité de l'utilisateur d'utiliser une autre méthode d'extraction, et dans ce cas, les performances ne sont pas garanties.

Pour l'extraction à haut-débit des échantillons, l'automatisation peut être utilisée. Nous recommandons d'utiliser le système d'extraction Qiacube (Qiagen) qui présente des performances identiques au kit d'extraction DermaXtract (testé sur 55 échantillons T. rubrum, 10 échantillons T. interdigitale et 14 échantillons négatifs).

10.3 Réalisation de la PCR en temps réel

Remarques générales:

- S'assurer que les réactifs sont complètement décongelés.
- Vortexer brièvement les tubes contenant les réactifs, puis centrifuger brièvement.
- Pour contrôler le bon fonctionnement de la PCR, il est nécessaire de tester le contrôle positif, ainsi que le contrôle négatif (eau fournie = CN-H₂O) dans chaque run.
- Le contrôle positif est un ADN synthétique double-brin contenant les régions ciblées par l'oligomix. Aucune extraction n'est nécessaire. Il doit être manipulé avec précaution pour éviter toute contamination des puits.
- S'assurer que les bonnes plaques (jupées/non jupées) soient utilisées pour chaque instrument afin que l'on puisse avoir une bonne lecture des puits dans tous les canaux de détection. Des plaques blanches doivent être utilisées sur les instruments CFX (CFX96, CFX Opus).
- La figure ci-dessous donne un aperçu de la préparation de la PCR.

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

Schéma de la procédure :

1 - PREPARATION MELANGE REACTIONNEL / MASTERMIX (ZONE 1)

Nombre de réactions	N+3
Mix enzymatique	(N+3) x 10 µL
Oligomix	(N+3) x 5 µL
Volume total Mastermix	(N+3) x 15 µL



2 - PREPARATION DES REACTIONS (ZONE 2)

Echantillon

15 µL de Mastermix
+
5 µL échantillon ADN

Contrôle Positif

15 µL de Mastermix
+
5µL CP

Contrôle Négatif

15 µL de Mastermix
+
5 µL Eau biologie moléculaire (CN-H2O)

- ❖ Sceller la plaque de PCR avec un film adhésif adapté avant le transfert dans l'instrument de PCR en temps réel.
- ❖ Centrifuger brièvement la plaque avant le transfert dans l'instrument de PCR en temps réel.



3 – INSTRUMENT PCR EN TEMPS REEL (ZONE 3)

Programme	Température	Durée	Cycle(s)	
Dénaturation	95°C	2 mins	1	-
Amplification	95°C	10 secs	44	-
	62°C	30 secs		Acquisition de fluorescence*

*La détection dans tous les canaux doit être sélectionnée

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

11. Validation du run de PCR

11.1 Validation de l'expérimentation sur CFX 96 et sur CFX Opus (Bio-Rad)

L'analyse des data post-acquisition sur un appareil de PCR CFX96 ou CFX Opus (Bio-Rad) doit être réalisée à l'aide de la version 3.1 du logiciel CFX Manager (Bio-Rad) ou de la version 1.1 ou de la version 2.3 du logiciel CFX Maestro (Bio-Rad).

L'analyse du run doit se faire sur le fichier de données avec le suffixe .pcrd. Sur le CFX 96, c'est le format automatiquement enregistré à la fin de run. Sur le CFX Opus, il faut au préalable ouvrir le fichier .zpcr automatiquement généré à la fin du run à l'aide du logiciel CFX Manager ou du logiciel CFX Maestro puis l'enregistrer sous le format .pcrd pour réaliser l'analyse.

L'option « **Baseline Substracted Curve Fit** » doit être appliquée dans l'onglet « Settings »: cliquer sur l'onglet « Settings », puis sur « Baseline Setting » et sur « Baseline Substracted Curve Fit ».

Il est recommandé de réaliser l'analyse sur une échelle linéaire.

Les valeurs de Ct sont déterminées à l'aide du mode de détermination des Ct par régression : cliquer sur l'onglet « Settings », puis sur « Cq determination mode » et sur « **Regression** ». Cela permet une détermination automatique des valeurs des Ct.

Pour que le run soit valide, il faut que les valeurs de Ct obtenues pour le contrôle positif et pour le contrôle négatif correspondent aux valeurs indiquées dans le tableau 4. **Le contrôle négatif doit être négatif dans tous les canaux de détection.**

Tableau 4: Validation du run sur CFX96 et CFX Opus

Contrôle Positif	
FAM	Ct ≤ 32
HEX	Ct ≤ 34
Texas Red	Ct ≤ 33
Cy5	Ct ≤ 31

11.2 Validation de l'expérimentation sur QuantStudio 5/QuantStudio 7 (ThermoFisher)

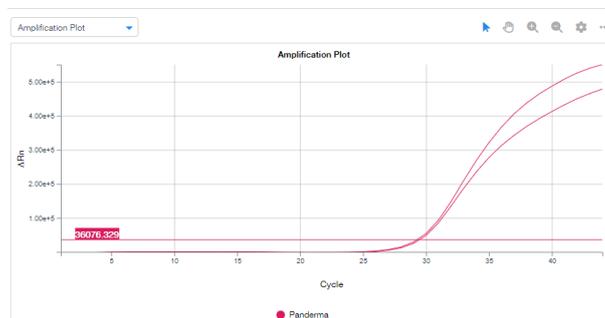
L'analyse des data post-acquisition doit se faire sur le fichier de données avec le suffixe .eds qui est automatiquement généré à la fin du run, à l'aide du logiciel Design and Analysis version 2.7.0.

L'analyse doit être faite sur chaque canal indépendamment en l'échelle linéaire sur les courbes d'amplification : dans l'onglet « Quality Check », sélectionner dans le menu déroulant l'option « Amplification plot ». Puis, en cliquant sur l'icône des réglages en haut à droite des courbes d'amplification, sélectionner « Linear » pour le paramètre **Y scale**.

Le threshold pour chaque fluorophore doit ensuite être placé au point d'inflexion de la courbe. Le point d'inflexion est le point auquel on observe un changement dans la direction de la courbe. Il peut être défini en traçant une droite parallèle à la phase linéaire de la courbe : le

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

point d'inflexion est le point au niveau duquel la droite coupe la courbe d'amplification. Un exemple est fourni dans la figure ci-dessous.



Pour que le run soit valide, il faut que les valeurs de Ct obtenues pour le contrôle positif et pour le contrôle négatif correspondent aux valeurs indiquées dans le tableau suivant (tableau 5). **Le contrôle négatif doit être négatif dans tous les canaux de détection..**

Tableau 5: Validation du run sur QuantStudio5/QuantStudio7

Contrôle Positif	
FAM	Ct ≤ 33
HEX	Ct ≤ 36
Texas Red	Ct ≤ 34
Cy5	Ct ≤ 33

11.3 Validation de l'expérimentation sur LC480 II (Roche)

Sur le LC480, une diaphonie (« cross-talk ») spectrale peut-être observée entre les canaux 533-580/533-610 et les canaux 533-610/618-660. Pour éviter que cela ne se produise, un kit de compensation de couleurs pour les 4 canaux FAM, HEX, Texas Red et Cy5 (ou équivalent) peut être utilisé.

L'analyse des data post-acquisition doit se faire sur le fichier de données avec le suffixe .ixo qui est automatiquement généré à la fin du run, à l'aide du logiciel LightCycler 480 version 1.5.1.

Pour réaliser l'analyse, sélectionner l'onglet « Analysis ». En fonction de l'utilisation ou non d'un kit de compensation de couleurs, sélectionner soit l'option « Abs/2nd derivative max » (sans compensation de couleur), soit l'option « Color comp » (avec compensation de couleurs). Chaque canal doit ensuite être analysé de façon indépendante et les valeurs de Ct sont calculées automatiquement en cliquant sur « Calculate ».

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

L'analyse doit être faite sur chaque canal indépendamment : dans l'onglet « Analysis », sélectionner l'option « Abs quant/2nd derivative max » et cliquer sur « Calculate ». Les valeurs de Ct sont automatiquement calculées par le logiciel.

Pour que le run soit valide, il faut que les valeurs de Ct obtenues pour le contrôle positif et pour le contrôle négatif correspondent aux valeurs indiquées dans le tableau suivant (tableau 6). **Le contrôle négatif doit être négatif dans tous les canaux de détection.**

Tableau 6: Validation du run sur LC480 II

Contrôle Positif	
FAM	Ct ≤ 33
HEX	Ct ≤ 34
Texas Red	Ct ≤ 34
Cy5	Ct ≤ 33

L'utilisation ou non d'un kit de compensation de couleurs ne change pas la sensibilité analytique et donc les valeurs de Ct dans chacun des canaux spécifiques. En revanche, l'interprétation des données va dépendre de si un programme de compensation de couleurs a été appliqué ou non. Le détail de l'interprétation des données se trouve dans la section 12. Analyse des données et interprétation

11.4 Validation de l'expérimentation sur LC Pro (Roche)

L'analyse des données sur le LC PRO (Roche) est réalisée avec le logiciel LightCycler® PRO (v1.0). Les données post-acquisition peuvent être importées dans le logiciel en créant un nouveau projet et en sélectionnant ensuite le fichier d'exécution stocké sur USB ou sur le serveur. Dans la section de configuration de la plaque, les ID des échantillons et les rôles des échantillons peuvent être indiqués, y compris les inconnus, le contrôle positif de matrice (PTC) et l'absence de contrôle de matrice (NTC). Notez qu'un seul PTC et un seul NTC peuvent être inclus par analyse.

Effectuez une analyse sur une seule plaque, sélectionnez l'analyse qualitative et définissez les canaux (FAM, HEX, Texas Red et Cy5). Dans la section « Define parameters », les informations sur la cible peuvent être fournies et la compensation de couleur peut être sélectionnée pour tous les canaux de détection. Le contrôle interne peut être sélectionné pour le canal de détection Cy5. L'option 'Positive target con-firmation without internal control' peut être sélectionnée pour les canaux de détection FAM, HEX et TexasRed. Dans la section « Edit sample information », il est possible de supprimer les puits qui n'ont pas été utilisés.

Pour que le run soit valide, il faut que les valeurs de Ct obtenues pour le contrôle positif et pour le contrôle négatif correspondent aux valeurs indiquées dans le tableau suivant (tableau 7). **Le contrôle négatif doit être négatif dans tous les canaux de détection.**

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

Tableau 7: Validation du run sur LC Pro

Contrôle Positif	
FAM	Ct ≤ 34
HEX	Ct ≤ 36
Texas Red	Ct ≤ 34
Cy5	Ct ≤ 34

11.5 Validation de l'expérimentation sur MIC (Biomolecular systems)

L'analyse des data post-acquisition doit se faire sur le fichier de données avec le suffixe .micrun qui est automatiquement généré à la fin du run, à l'aide du logiciel micpcr version 2.12.6.

L'analyse doit être faite sur chaque canal indépendamment, dans la partie « Analysis », sélectionner les paramètres suivants :

The image displays four screenshots of the software's 'Parameters' window, each corresponding to a different assay channel. Each window shows the following settings:

- Green Channel:** Target: Non-Assay Green, Source Data: Cycling Green, Threshold Start: 1,00, Auto Set Threshold: , Method: Dynamic, Ignore Cycles Before: 10, Exclusion: Simple.
- Orange Channel:** Target: Non-Assay Orange, Source Data: Cycling Orange, Threshold Start: 1,00, Auto Set Threshold: , Method: Dynamic, Ignore Cycles Before: 10, Exclusion: Extensive, Fluorescence Cutoff Level: 5,0 %.
- Red Channel:** Target: Non-Assay Red, Source Data: Cycling Red, Threshold Start: 1,00, Auto Set Threshold: , Method: Dynamic, Ignore Cycles Before: 10, Exclusion: Extensive, Fluorescence Cutoff Level: 5,0 %.
- Yellow Channel:** Target: Non-Assay Yellow, Source Data: Cycling Yellow, Threshold Start: 1,00, Auto Set Threshold: , Method: Dynamic, Ignore Cycles Before: 10, Exclusion: Extensive, Fluorescence Cutoff Level: 5,0 %.

Pour que le run soit valide, il faut que les valeurs de Ct obtenues pour le contrôle positif et pour le contrôle négatif correspondent aux valeurs indiquées dans le tableau suivant (tableau 8). **Le contrôle négatif doit être négatif dans tous les canaux de détection.**

Tableau 8: Validation du run sur le MIC

Contrôle Positif	
FAM	Ct ≤ 32
HEX	Ct ≤ 34
Texas Red	Ct ≤ 33

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

Cy5	Ct ≤ 32
-----	---------

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

12. Analyse des données et interprétation

L'analyse et l'interprétation des données reposent sur les mesures du signal enregistrées pour chaque canal du kit DermaScreen, comme le montre le tableau 9, qui énumère les espèces de dermatophytes et les témoins correspondants.

Tableau 9: Interprétation des données

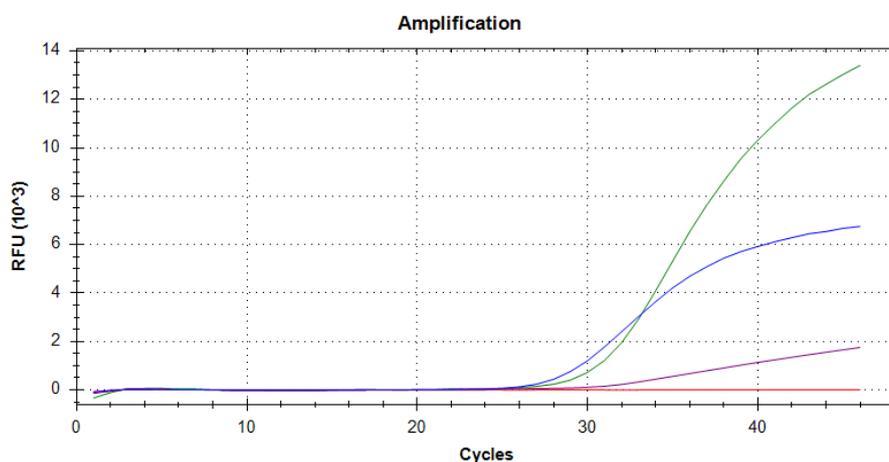
Interprétation des données EBX-073 DermaScreen (CFX96, CFX Opus, QuantStudio5/7, LC480 (avec compensation de couleurs), LC PRO, MIC)				
FAM	HEX	TexasRed	Cy5	Result
Pos	Neg	Neg	Pos/Neg	Positif pour les espèces de dermatophytes (1)
Pos*	Neg	Pos	Pos/Neg	<i>Trichophyton interdigitale</i> / <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (2)
Pos*	Pos	Neg	Pos/Neg	<i>Trichophyton rubrum</i> / <i>Trichophyton soudanense</i> (3)
Neg	Neg	Neg	Pos	Négatif pour les espèces de dermatophytes (5)
Neg	Neg	Neg	Neg	Invalide
Interprétation des données EBX-073 DermaScreen (LC480 II sans compensation de couleurs)				
FAM	HEX	TexasRed	Cy5	Result
Pos	Neg	Neg	Pos/Neg	Positif pour les espèces de dermatophytes (1)
Pos*	Neg	Pos	Pos/Neg	<i>Trichophyton interdigitale</i> / <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (2)
Pos*	Pos	Pos	Pos/Neg	<i>Trichophyton rubrum</i> / <i>Trichophyton soudanense</i> (3) (4)
Neg	Neg	Neg	Pos	Négatif pour les espèces de dermatophytes (5)
Neg	Neg	Neg	Neg	Invalide

* Un signal FAM/panderma négatif avec un signal HEX/*T. rubrum* ou Texas Red/*T. interdigitale* peut se produire, mais il s'agit de très faibles concentrations de dermatophytes.

- (1) La sonde FAM détecte toutes les espèces de dermatophytes, y compris tous les *Trichophyton* spp, *Microsporum* spp, *Epidermophyton* spp, *Nannizzia* spp et *Paraphyton* spp pertinents. Si seule la sonde FAM est positive, elle sera signalée comme « dermatophyte positive » mais pas comme *T. interdigitale* ou *T. rubrum*.
- (2) Les dermatophytes *T. quinckeanum* et *T. schoenleinii* présentent une homologie partielle avec le système de détection en Texas Red et peuvent donc également être détectés dans une moindre mesure sur le canal Texas Red. Cependant, seul *T. interdigitale* est présent dans les échantillons d'ongles.
- (3) Le système de détection en HEX détecte également *T. soudanense* mais ce dermatophyte est uniquement présent dans les prélèvements capillaires.
- (4) Une diaphonie spectrale est observée entre les canaux de détection de l'instrument PCR LC480 II. Par conséquent, si aucun kit de compensation de couleurs n'a été appliqué, les signaux du canal de détection 533-580 (*T. rubrum*) seront également observés dans le canal de détection 533-610 (*T. interdigitale*). Des signaux dans le canal 533-610 (*T. interdigitale*) peuvent également être observés dans le canal de détection 618-660 (contrôle d'inhibition). Lorsque des signaux sont présents dans les canaux de détection 533-580 et 533-610, cela doit être interprété comme une infection par *T. rubrum* uniquement (une double infection étant considérée comme très rare). Remarque importante : pour une analyse correcte des données, il convient de toujours comparer les courbes d'amplification des échantillons au signal PC.
- (5) Les signaux du contrôle d'inhibition ne sont visibles que lorsque le contrôle d'inhibition est utilisé pendant l'extraction de l'ADN. Le contrôle d'inhibition est surpassé par des concentrations élevées d'ADN de dermatophyte, ce qui se traduit par un signal limité ou absent en Cy5. Le résultat est toujours valide.

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

Un exemple de résultat sur CFX96 est présenté dans la figure ci-dessous. Il s'agit d'un échantillon positif à *T. rubrum*. La courbe verte indique un signal dermatophyte (FAM), la courbe bleue est un signal *T. rubrum* (HEX), la courbe violette est un signal de contrôle d'inhibition supprimé (Cy5) et le signal T. interdigitale (TexasRed) est négatif.



Limites d'utilisation et d'interprétation :

- L'interprétation des résultats doit prendre en compte la possibilité de faux négatifs et de faux positifs.

Les faux négatifs peuvent être dus à :

- Une collecte inadaptée des échantillons, ou un mauvais stockage,
- Des conditions d'extraction inadaptées ou l'utilisation d'instruments de PCR non validés,
- Une expérimentation non respectueuse de tous les éléments de ce mode d'emploi.

Les faux positifs peuvent être dus à :

- Une contamination liée à une mauvaise manipulation d'échantillons fortement positifs, du contrôle positif, ou des produits issus de l'amplification de PCR,
 - Un non-respect de la procédure décrite dans ce mode d'emploi, notamment pour éviter toute source de contamination.
- Tout résultat doit être interprété par du personnel médical dans le contexte clinique du patient, son historique et ses symptômes.
 - Ce test n'exclut pas la présence d'autres pathogènes que ceux ciblés par ce kit.
 - Des réactions croisées peuvent se produire (voir tableau 14), avec d'autres espèces rares de dermatophytes, ou être presque exclusivement présentes dans d'autres types d'échantillons biologiques tels que les cheveux ou la peau.
 - Un résultat négatif de ce test n'exclut pas de façon absolue une possible infection aux dermatophytes ciblés dans ce kit.

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

13. Analyse des performances

Sensibilité analytique

Une analyse Probit afin de déterminer le cut-off 95% par cible a été réalisée à partir d'une gamme de dilution. Les résultats pour chacune des cibles spécifiques du kit (*T. rubrum* et *T. interdigitale*) et par instrument sont présentés dans les tableaux ci-après :

Tableau 10: Sensibilité analytique (95% cut-off) en copies/μL

Sensibilité analytique (95% cut-off) en copies/μL						
Cibles spécifiques	CFX 96 (Bio-Rad)	CFX Opus (Bio-Rad)	QuantStudio 7 (ThermoFisher)	LC 480 II (Roche)	LC Pro (Roche)	MIC (Biomolecular systems)
<i>T. rubrum</i> (HEX)	0,97	1,19	0,84	0.51	0,88	1.53
<i>T. interdigitale</i> (Texas Red)	1	8,83	1,32	13	1,03	12.5

Variabilité du signal sur les canaux spécifiques HEX et Texas Red

- Variabilité intra-expérience : CV (Coefficient de Variation) intra-lot

Tableau 11: CV intra-lot

CV intra-lot (%)						
Cibles spécifiques	CFX 96 (Bio-Rad)	CFX Opus (Bio-Rad)	QuantStudio 7 (ThermoFisher)	LC 480 II (Roche)	LC Pro (Roche)	MIC (Biomolecular systems)
<i>T. rubrum</i> (HEX)	3,46	3,23	1,65	1,54	0,91	1,05
<i>T. interdigitale</i> (Texas Red)	5,69	2,11	0,76	3,01	1,29	0,93

- Variabilité inter-lots : CV inter-lot

Tableau 12: CV inter-lot

CV inter-lot (%)						
Cibles spécifiques	CFX 96 (Bio-Rad)	CFX Opus (Bio-Rad)	QuantStudio 7 (ThermoFisher)	LC 480 II (Roche)	LC Pro (Roche)	MIC (Biomolecular systems)
<i>T. rubrum</i> (HEX)	3,04	2,29	1,76	1,95	1,08	2,2
<i>T. interdigitale</i> (Texas Red)	5,75	1,44	1,42	2,14	1,16	2,74

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

Sensibilité et spécificité cliniques

La spécificité et la sensibilité cliniques ont été déterminées sur la base de tests effectués sur des échantillons d'ongles cliniques dans un contexte de routine. Tous les échantillons ont d'abord été extraits avec le kit EurobioPlex DermaXtract (EBE-077) avant d'être analysés avec la PCR en temps réel EurobioPlex DermaScreen en utilisant le CFX96 et le LC480:

Tableau 13: Sensibilité et spécificité clinique

	Méthode de référence moléculaire (n)	DermaScreen (n)	Sensibilité (%) (95% IC*)	Spécificité (%) (95% IC*)
<i>T. rubrum</i>	121	120	99,2 (98,224-100,208)	
<i>T. interdigitale</i>	26	25	96,2 (95,312-97,235)	
Negative	68	62		91,2 (90,356-92,179)

*IC = Intervalle de confiance

Spécificité analytique

La spécificité analytique a été déterminée en testant l'ADN génomique de 18 souches de dermatophytes, mais aussi de souches fongiques et bactériennes qui peuvent être présentes sur les ongles ou dans l'environnement. Toutes les souches ont été testées sur le CFX96 et sont énumérées dans le tableau ci-dessous. En outre, toutes les séquences d'amorces et de sondes ont été comparées aux séquences publiées dans Genbank afin de vérifier les homologies possibles qui pourraient entraîner des signaux indésirables.

Tableau 14: Spécificité analytique

Species	Result DermaScreen		
	Panderma (FAM)	<i>T. rubrum</i> (HEX)	<i>T. interdigitale</i> (TexasRed)
<i>T. mentagrophytes</i> Thailand*	Positive	ND	Positive
<i>T. indotineae</i> *	Positive	ND	Positive
<i>T. quinckeanum</i> **	Positive	ND	Positive
<i>T. schoenleinii</i> **	Positive	ND	Positive
<i>T. interdigitale</i>	Positive	ND	Positive
<i>T. mentagrophytes</i> *	Positive	ND	Positive
<i>T. rubrum</i>	Positive	Positive	ND
<i>T. tonsurans</i>	Positive	ND	ND
<i>T. violaceum</i>	Positive	ND	ND
<i>T. soudanense</i> ***	Positive	Positive	ND
<i>T. verrucosum</i>	Positive	ND	ND
<i>P. cookei</i>	Positive	ND	ND

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

<i>E. floccosum</i>	Positive	ND	ND
<i>M. canis</i>	Positive	ND	ND
<i>M. audouinii</i>	Positive	ND	ND
<i>T. benhamiae</i>	Positive	ND	ND
<i>N. gypsea</i>	Positive	ND	ND
<i>C. albicans</i>	ND	ND	ND
<i>C. parapsilosis</i>	ND	ND	ND
<i>M. guilliermondii</i>	ND	ND	ND
<i>F. solani</i>	ND	ND	ND
<i>A. fumigatus</i>	ND	ND	ND
<i>R. oryzae</i>	ND	ND	ND
<i>S. brevicaulis</i>	ND	ND	ND
<i>T. marneffeii</i>	ND	ND	ND
<i>S. aureus</i>	ND	ND	ND
<i>S. epidermidis</i>	ND	ND	ND
ADN humain	ND	ND	ND

ND signifie Non Déterminé

*Les espèces de *T. mentagrophytes*, y compris le sous-type originaire de Thaïlande, mais aussi *T. indotinaea*, produisent un signal dans le canal de détection TexasRed. Ces espèces étroitement apparentées ne sont pas des pathogènes des ongles.

***T. quinckeanum* et *T. schoenleinii* sont également détectés dans TexasRed avec la sonde *T. interdigitale*, mais les signaux sont beaucoup plus faibles. Il convient de noter que ces deux espèces ne sont pas des pathogènes des ongles.

****T. soudanense* est également détecté dans HEX avec la sonde *T. rubrum*, mais il ne s'agit pas d'un pathogène de l'ongle.

Substances interférentes

Quatre substances interférentes susceptibles de se retrouver dans les échantillons ont été testées pour leur éventuel effet interférent sur l'efficacité du kit: le vernis à ongles transparent, le vernis à ongles rouge, le miconazolnitate et la terbinafine qui sont deux substances fréquemment retrouvées dans les crèmes antifongiques.

Aucune de ces 4 substances ne présente un effet interférent sur la réaction d'extraction ou sur la PCR.

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

14. Bibliographie

1. Irene Weitzman, Richard C. Summerbell, The Dermatophytes, Clinical Microbiology Reviews, Apr. 1995, p. 240-259 Vol. 8, No. 2
2. Dyanne P. Westerber, Michael J. Voyack, Onychomycosis: Current Trends in Diagnosis and Treatment, Am Fam Physician. 2013;88(11):762-770
3. Yvonne Gräser, Ditte M L Saunte, A Hundred Years of Diagnosing Superficial Fungal Infections: Where Do We Come From, Where Are We Now and Where Would We Like To Go?, Acta Derm Venereol 2020 Apr 20;100(9)
4. Pietro Nenoff, Dieter Reinel, Peter Mayser, Dietrich Abeck, Guntram Bezold, Philipp P. Bosshard, Jochen Brasch, Georg Daeschlein, Isaak Effendy, Gabriele Ginter-Hanselmayer, Yvonne Gräser, Gudrun Hamm, Ulrich Hengge, Uta-Christina Hipler, Peter Höger, Alexandra Kargl, Annette Kolb-Mäurer, Constanze Krüger, Bartosz Malisiewicz, Johannes Mayer, Hagen Ott, Uwe Paasch, Martin Schaller, Silke Uhrlaß, Miriam Zidane Guideline onychomycosis, JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft: May, 2023, Volume 21, Issue 6, Pages: 571-710
5. A.K. Gupta, M. Paquet, F. Simpson, A. Tavakkol, Terbinafine in the treatment of dermatophyte toenail onychomycosis: a meta-analysis of efficacy for continuous and intermittent regimens, Volume 27, Issue 3, March 2013, Pages 267-272
6. Subuhi Kaul, Savita Yadav, Sunil Dogra, Treatment of Dermatophytosis in Elderly, Children, and pregnant women, Indian Dermatol Online J 2017 ;8 :310-8
7. Pilmis B, Julien V, Sobel J, Lecuit M, Lotholary O, Charlier C, Antifungal drugs during pregnancy: An updated review, J Antimicrob Chemother 2015;70:14-22
8. Murase JE, Heller MM, Butler DC, Safety of dermatologic medications in pregnancy and lactation: Part I. Pregnancy, J Am Acad Dermatol 2014;70:401-159.
9. Patel VM, Schwartz RA, Lambert WC, Topical Antiviral and Antifungal Medications in Pregnancy: A Review of Safety Profiles, J Eur Acad Dermatol Venereol 2017;27
10. Christina Forsberg*, Lina Pettersson, Lina Boiso, The effect of freezing, thawing and long-term storage on forensic DNA extracts. Forensic Science International: Genetics Supplement Series 8(2022)77-78

15. Contrôle qualité

Conformément au système de management de la qualité d'Eurobio, certifié ISO EN 13485, chaque lot de EurobioPlex DermaScreen est testé selon des spécifications prédéfinies afin de garantir une qualité constante des produits.

16. Elimination des déchets

Eliminer tous les déchets conformément à la législation sur les DASRI ou à la réglementation locale en vigueur.

17. Déclaration d'incident

Tout incident grave survenu en lien avec le réactif fait l'objet d'une notification à Eurobio Scientific et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Notice d'utilisation EurobioPlex DermaScreen

18. Assistance technique

Pour obtenir une assistance sur nos produits, merci de contacter notre support technique.

Le service clients d'Eurobio Scientific est joignable par voie électronique (mail), à l'adresse adv@eurobio-scientific.com ou par téléphone au +33 (0)1.69.79.64.80



7, avenue de Scandinavie
ZA de Courtabœuf
91940 Les Ulis
FRANCE