AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MODE D'EMPLOI

AESKULISA® Rubella Virus IgG / IgM

Ref 6022 / 6023



Mises à jour	
Version actuelle	V.006 du 21/11/2024
Version précédente	V.005 du 30/11/2021
Modifications de chapitres	Adresse, chapitre 13
Motif des modifications	Mise en œuvre de l'UDI, mise à jour de l'adresse, ajout du chapitre 13

Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim
Germany
Phone: +49 6734 9622-0
Fax: +49 6734 9622-2222
Website: www.aesku.com
Mail: info@aesku.com

Sommaire

1 Utilisation prévue 1
2 Valeur diagnostique 1
3 Principe du test *AESKULISA*® 2
4 Antigène 2
5 Composants de l'*AESKULISA*® 2
6 Matériel requis supplémentaire 3
7 Conservation et stabilité 3
8 Exécution du test *AESKULISA*® 3
8.1 Remarques générales 3
8.2 Préparation des réactifs 4
8.2.1 Barrettes de microtitration (prêtes à l'emploi) 4
8.2.2 Étalons (prêts à l'emploi) 4
8.2.3 Contrôles (prêts à l'emploi) 4
8.2.4 Diluant pour échantillon (5x conc.) 4
8.2.5 Tampon de lavage (50x conc.) 4
8.2.6 Conjugué POD anti-IgA, IgG ou IgM humain (prêt à l'emploi) 5
8.2.7 Substrat (prêt à l'emploi) 5
8.2.8 Solution d'arrêt (prête à l'emploi) 5
8.3 Préparation de l'échantillon 5
8.3.1 Type d'échantillon 5
8.3.2 Dilution d'échantillon 5
8.3.3 Absorption du facteur rhumatoïde avec *AESKULISA*® IgM 5
8.3.4 Conservation des échantillons 5
8.4 Exécution 6
8.4.1 Tableau de pipetage 6
8.4.2 Déroulement du test 6
8.5 Exécution avec application automatisée 8
9 Évaluation de l'*AESKULISA*® 8
9.1 Normalisation 8
9.2 Évaluation quantitative 8
9.3 Plage de valeurs limites 8
9.4 Plages de mesure 8
9.5 Évaluation qualitative 9
9.6 Critères de validité 9
9.7 Interprétation des résultats 9
10 Caractéristiques de l'*AESKULISA*® 10
10.1 Sensibilité et spécificité analytiques 10
10.2 Sensibilité et spécificité diagnostiques 10
10.3 Valeurs attendues 11
10.4 Précision 11
11 Consignes de sécurité 12
11.1 Avertissements et mesures de précaution 12
11.2 Élimination 12
12 Références 13
13 Symboles réglementaires 15

1 Utilisation prévue

Les tests *AESKULISA*® Rubella Virus IgG et IgM sont des tests immunologiques qualitatifs et quantitatifs destinés à la détection des anticorps IgG et IgM humains présents dans le sérum ou le plasma qui sont dirigés contre le virus de la rubéole. Le test *AESKULISA*® Rubella Virus IgM est utilisé pour détecter les infections aiguës. Le test *AESKULISA*® Rubella Virus IgG permet de confirmer un contact avec l'agent pathogène et facilite la détermination du statut immunitaire.

L'interprétation des résultats ne peut se faire qu'en relation avec le tableau clinique. Ne jamais faire reposer un diagnostic exclusivement sur les résultats du test effectué ; au contraire, il convient de toujours tenir compte de l'ensemble des résultats des examens cliniques et analyses de laboratoire. Pour confirmation, d'autres investigations doivent être effectuées. Les tests immunoenzymatiques d'*AESKULISA*® sont exclusivement conçus à des fins de diagnostic *in vitro* et réservés à l'usage de personnes qualifiées, formées et spécialement averties, maîtrisant parfaitement les techniques de laboratoire.

2 Valeur diagnostique

Le virus de la rubéole, répandu dans le monde, est un virus ARNss(+) de la famille des *Matonaviridae*. Pathogène pour l'homme, il mesure 50 à 70 nm. Il est principalement transmis de manière aérogène par infection par gouttelettes.

Environ la moitié de toutes les personnes infectées ne présente pas de symptômes pathologiques, de sorte que l'infection passe souvent inaperçue. En cas de maladie, la rubéole se manifeste après un délai d'incubation de 14 à 21 jours sous forme d'exanthème maculeux ou maculopapuleux qui survient d'abord sur le visage, s'étend ensuite sur le tronc et les extrémités, puis disparaît en général à nouveau au bout d'un à trois jours. Parallèlement peuvent survenir des symptômes non spécifiques comme de la fièvre, des céphalées, des douleurs dans les membres, des gonflements des ganglions lymphatiques et une conjonctivite. L'arthrite, la thrombopénie et l'encéphalite sont de rares complications dont la fréquence augmente souvent avec l'âge. De plus, une bronchite, une otite ou une péricardite peuvent se produire.

Une primo-infection par le virus de la rubéole est particulièrement dangereuse pendant la grossesse, car en cas de transmission diaplacentaire du pathogène, elle peut donner lieu à de sévères complications (embryofœtopathie rubéolique) avec des malformations marquées de l'enfant, voire à des fausses couches. En l'occurrence, le risque d'infection fœtale et l'ampleur des lésions sont plus ou moins marqués en fonction du moment de l'infection. Les manifestations cliniques du syndrome de rubéole congénitale (SRC) comprennent la malformation cardiaque, l'opacification de l'œil (cataracte) et la surdité. Les autres conséquences possibles sont un faible poids de naissance, une thrombopénie, une encéphalite, une hépatosplénomégalie ou une microcéphalie.

Des vaccins vivants atténués existent en guise de prophylaxie. En Allemagne, la Commission permanente de vaccination (Ständige Impfkommission, STIKO) recommande l'immunisation pour les enfants de 11 à 14 mois et plus, ainsi que pour les adultes chez lesquels aucune immunisation n'a été effectuée et on n'a pas décelé d'anticorps IgG dirigés contre le virus de la rubéole.

Le diagnostic de la rubéole établi uniquement à partir du tableau clinique n'est pas fiable et doit être confirmé par analyses biologiques. À cette fin, des méthodes de détection directes et indirectes sont à disposition. Dans les diagnostics de routine, la détection indirecte d'une infection par le virus de la rubéole et la détermination du statut immunitaire passent par la détection sérologique d'anticorps IgG et IgM spécifiques au virus de la rubéole.

3 Principe du test *AESKULISA*®

AESKULISA® (AESKU *Enzyme Linked Immunosorbent Assay - test d'immuno-absorption enzymatique*) est un procédé immunologique qui s'est avéré particulièrement adapté à la détection des anticorps. La réaction de détection repose sur l'interaction spécifique d'anticorps et d'antigènes. À cette fin, les puits des microplaques *AESKULISA*® ont été revêtues d'antigènes spécifiques d'agents pathogènes infectieux afin de les lier aux anticorps présents dans l'échantillon du patient. D'autres anticorps secondaires marqués à la peroxydase détectent les immunocomplexes ainsi formés. L'enzyme catalyse une réaction au cours de laquelle un substrat incolore est transformé en un produit coloré. La force du signal du produit de réaction est proportionnelle à l'activité des anticorps dans l'échantillon et est détectée par photométrie.

4 Antigène

La détection des anticorps avec *AESKULISA*® Rubella Virus IgG et IgM est basée sur l'utilisation du virus de la rubéole purifié et inactivé (souche HPV-77).

5 Composants de l'*AESKULISA*®

Composant du test	Couleur de la solution	Couleur du couvercle	Nombre/ volume
Barrettes sécables de **microtitration** MP comportant huit puits revêtus chacun (au total 96), 1 cadre de test. Le revêtement spécifique au test est inactivé.	-	-	12 pièces
Étalons A – D CAL (prêts à l'emploi) Sérum humain ou anticorps chimérique dans une solution protéinique (BSA) ; colorée ; conservateur ProClin. Les activités anticorps des étalons sont indiquées sur leurs étiquettes et sur le certificat de contrôle qualité de l'*AESKULISA*®.	jaune*	blanc	4 x 1,5 ml
Contrôle positif CON + (prêt à l'emploi) Sérum humain ou anticorps chimérique dans une solution protéinique (BSA) ; colorée ; conservateur ProClin.	jaune*	rouge	1 x 1,5 ml
Contrôle négatif CON – (prêt à l'emploi) Sérum humain ou anticorps chimérique dans une solution protéinique (BSA) ; colorée ; conservateur ProClin.	jaune*	vert	1 x 1,5 ml
Diluant pour échantillon SB 5x**, 5x conc.** Solution protéinique (BSA) ; colorée ; < 0,1 % d'azoture de sodium utilisé comme conservateur. Le tampon d'échantillon pour les tests immunologiques *AESKULISA*® IgM contient de l'absorbant Rf.	IgG, IgA : jaune IgM : vert	blanc	1 x 20 ml
Tampon de lavage WASHB 50x**, 50x conc.** Solution avec Tween 20 ; colorée ; conservateur ProClin.	vert	blanc	1 x 20 ml
Conjugué anti-IgA, IgG ou IgM humain CONJ (prêt à l'emploi) Anticorps polyclonal anti-IgA, IgG ou IgM humain, conjugué à de la peroxydase de raifort, stabilisé dans une solution protéinique (BSA) ; colorée ; conservateur ProClin.	IgA : rouge IgG : bleu IgM : vert	IgA : rouge IgG : bleu IgM : vert	1 x 15 ml
Substrat SUB (prêt à l'emploi) TMB/H_2O_2.stabilisé	incolore	noir	1 x 15 ml

Solution d'arrêt STOP (prête à l'emploi) Acide chlorhydrique 1 M (HCl).	incolore	blanc	1 x 15 ml
Certificat de contrôle qualité	-	-	1 pièces
Mode d'emploi	-	-	1 pièces

*L'intensité de la couleur augmente avec l'activité des anticorps.

6 Matériel requis supplémentaire

- Équipement de laboratoire habituel avec matériel en verre (éprouvette 100 à 1000 ml), tubes pour dilutions, malaxeur au vortex, micropipettes (10, 100, 200, 500, 1000 µl) ou multipipette réglable (100 – 1000 µl).
- Spectrophotomètre pour microplaques avec filtre, longueur d'onde 450 nm, longueur d'onde de référence recommandée dans la plage de 600 à 690 nm (par exemple 620 nm)
- Dispositif de lavage pour microplaques (multipipette de 300 µl, pipette multicanaux ou système de lavage automatique)
- Papier filtre
- *Eau distillée*
  Les tests immunologiques *AESKULISA*® ont été développés en vue d'être utilisés avec de l'eau purifée (*purified water*), conformément à la définition de la pharmacopée américaine (UPS 26 - NF 21) et à la pharmacopée européenne (Ph. eur. 4e éd.).

7 Conservation et stabilité

Les barrettes de microtitration doivent toujours être maintenues scellées dans le film d'emballage avec un sachet sec. Lorsqu'ils sont conservés correctement dans leur emballage d'origine et à une température comprise entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F, les réactifs et la microplaque sont stables, même après ouverture jusqu'à la date de péremption indiquée. Les solutions diluées sont stables pendant quatre semaines entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F.

8 Exécution du test *AESKULISA*®

8.1 Remarques générales

Le respect précis du mode d'emploi garantit des résultats de test corrects. Pour utiliser correctement les tests immunologiques *AESKULISA*®, seuls les réactifs *AESKULISA*® doivent être utilisés. Ces derniers ne peuvent pas être échangés contre des réactifs d'autres fabricants.

Les microplaques, les étalons, les contrôles et les conjugués des tests immunologiques *AESKULISA*® sont configurés pour des tests et des lots spécifiques et ne peuvent pas être utilisés avec d'autres lots. Les évaluations des étalons et des contrôles figurent sur le certificat de contrôle qualité du test immunologique *AESKULISA*®. La solution de lavage, la solution de substrat et la solution d'arrêt peuvent être combinées à tous les tests immunologiques *AESKULISA*®, indépendamment du test et du lot.

Le diluant pour échantillon des tests immunologiques *AESKULISA*® IgA et IgG peut être utilisé avec tous les tests immunologiques *AESKULISA*® IgA et IgG (REF 6xxx), indépendamment du test et du lot. Le diluant pour échantillon des tests immunologiques *AESKULISA*® IgM contient un

absorbant Rf et peut être utilisé avec tous les tests immunologiques *AESKULISA*® IgM pour maladies infectieuses (REF 6xxx), indépendamment du test et du lot.

Pour éviter toute contamination, utilisez toujours des techniques aseptiques pour l'élimination des réactifs. La solution de conjugué et de substrat ne doit jamais être pipetée avec des embouts contaminés par d'autres réactifs. La reproductibilité des résultats dépend, entre autres, de l'homogénéisation minutieuse des réactifs. Pour cette raison, les dilutions de réactifs et d'échantillons doivent être soigneusement mélangées avant utilisation. Une dilution incorrecte peut entraîner une perte de la sensibilité de détection.

En outre, il faut veiller à une technique de pipetage minutieuse et au respect des périodes et températures d'incubation indiquées. Un lavage correct empêche les imprécisions du test.

Les réactifs doivent être protégés de la lumière vive pendant la conservation et l'incubation. Ils ne doivent jamais être exposés à des températures supérieures à 37 °C / 98,6 °F. Après utilisation, l'emballage des réactifs doit être bien refermé afin d'éviter la déshydratation et la contamination. Lors de la fermeture des flacons, éviter de mélanger les couvercles.

Les tests immunologiques *AESKULISA*® ne peuvent être évalués que si les critères de validité ont été satisfaits.

8.2 Préparation des réactifs

Tous les composants et la microplaque doivent être ramenés à température ambiante (20-25 °C / 68-77 °F) avant le test. Les réactifs liquides doivent être bien mélangés. Seules des bouteilles en verre propres peuvent être utilisées pour diluer les concentrés tampons.

8.2.1 Barrettes de microtitration (prêtes à l'emploi)

Des lettres permettent d'identifier l'antigène revêtu sur les barrettes de microtitration.

8.2.2 Étalons (prêts à l'emploi)

Les étalons CAL A à CAL D sont prêts à être utilisés et ne doivent pas être dilués. Pour chaque série de tests, les étalons doivent être inclus, quel que soit le nombre de barrettes de test utilisées.

8.2.3 Contrôles (prêts à l'emploi)

Le contrôle positif CON+ et le contrôle négatif CON- sont prêts à l'emploi et ne doivent pas être dilués. Pour chaque série de tests, les contrôles doivent être inclus, quel que soit le nombre de barrettes de test utilisées.

Selon les directives nationales, les laboratoires peuvent également valider leurs propres contrôles et les utiliser comme solutions alternatives.

8.2.4 Diluant pour échantillon (5x conc.)

Le tampon d'échantillon concentré doit être dilué au 1/5 avec de l'eau distillée avant utilisation (par exemple 20 ml + 80 ml). Le tampon d'échantillon des tests immunologiques *AESKULISA*® IgM contient de l'absorbant Rf.

8.2.5 Tampon de lavage (50x conc.)

Le tampon de lavage concentré doit être dilué au 1:50 avec de l'eau distillée avant utilisation (par exemple 20 ml + 980 ml).

8.2.6 Conjugué POD anti-IgA, IgG ou IgM humain (prêt à l'emploi)

Le conjugué est prêt à l'emploi.

8.2.7 Substrat (prêt à l'emploi)

Le substrat TMB doit toujours être pipeté avec de nouveaux embouts afin d'éviter toute contamination. Tenir la solution substrat à l'abri de toute lumière intense.

8.2.8 Solution d'arrêt (prête à l'emploi)

La solution d'arrêt est prête à l'emploi.

8.3 Préparation de l'échantillon

8.3.1 Type d'échantillon

Il est recommandé d'utiliser des échantillons frais de sérum ou de plasma EDTA. Ne pas utiliser d'échantillon ictérique, lipémique, hémolytique ou contaminé par des bactéries. Les échantillons de particules doivent être centrifugés (< 1000 x g) et le surnageant retiré pour une utilisation ultérieure. Les échantillons ne doivent pas être inactivés thermiquement.

8.3.2 Dilution d'échantillon

Les échantillons de patients doivent être dilués à 1:101 (par exemple 10 µl + 1000 µl) avec un tampon d'échantillon 1x et être bien mélangés.

8.3.3 Absorption du facteur rhumatoïde avec *AESKULISA*® IgM

Les facteurs rhumatoïdes (Rf) sont principalement des auto-anticorps de la classe des IgM, qui se lient préférentiellement aux complexes immunologiques des IgG. La détection d'anticorps IgM spécifiques à l'agent pathogène peut conduire à des résultats faussement positifs dus à ces facteurs rhumatoïdes. En outre, les anticorps IgM de faible liaison et spécifiques aux agents pathogènes pourraient être remplacés par des anticorps IgG de liaison plus puissante. La détection des IgM peut donner un faux négatif. Pour cette raison, le tampon d'échantillon du test immunologique *AESKULISA*® IgM contient de l'absorbant Rf spécial. L'absorption Rf est réalisée en diluant l'échantillon du patient 1x dans le tampon d'échantillon du test immunologique *AESKULISA*® IgM, puis en l'incubant pendant au moins 15 minutes à température ambiante.

8.3.4 Conservation des échantillons

Les échantillons de patients doivent être utilisés dans les 8 à 48 heures et conservés entre 2-8 °C / 35,6-46,4 °F. Une conservation prolongée des échantillons est possible à des températures ≤ -20 °C / -4 °F. Il convient d'éviter les cycles de décongélation et de congélation répétés.

8.4 Exécution

8.4.1 Tableau de pipetage

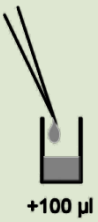
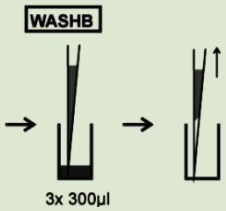
En fonction de l'application quantitative ou qualitative envisagée du test immunologique *AESKULISA*®, le tableau de pipetage suivant est recommandé :

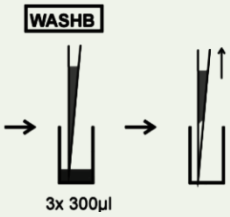
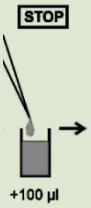
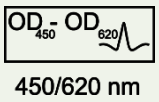
	Application quantitative						Application qualitative				
	1	2	3	4			1	2	3	4	
A	CAL A	P3				A	CON–	P5			
B	CAL B	P4				B	CAL B	P6			
C	CAL C	P5				C	CAL B	…			
D	CAL D	P6				D	CON+				
E	CON–	…				E	P1				
F	CON+					F	P2				
G	P1					G	P3				
H	P2					H	P4				

	CAL A	Étalon A		CON–	Contrôle négatif
	CAL B	Étalon B		CAL B	Contrôle *seuil*
	CAL C	Étalon C		CON+	Contrôle positif
	CAL D	Étalon D			
	CON–	Contrôle négatif			
	CON+	Contrôle positif			

8.4.2 Déroulement du test

Insérer le nombre de puits requis dans le cadre de test et créer la fiche de protocole.
Pour le traitement manuel, l'application à température ambiante est recommandée.

Étape de travail	Symbole	Description
1. Ajouter des étalons, des contrôles et des échantillons dilués		Ajouter 100 µl d'étalons, de contrôles et d'échantillons dilués prêts à l'emploi par puits.
2. Incubation d'échantillon		Incubation pendant 30 +/- 3 minutes à 20-32 °C / 68-89,6 °F.
3. 3 lavages		Aspirer le liquide des puits ; ajouter 300 µl de solution de lavage 1x par puits, aspirer la solution de lavage et répéter encore 2x la procédure ; tapoter la plaque.

4. Ajouter un conjugué		Déposer dans chaque puits 100 µl de solution de conjugué prête à l'emploi.
5. Incubation de conjugué		Incubation pendant 30 +/- 3 minutes à 20-32 °C / 68-89,6 °F.
6. 3 lavages		Aspirer le liquide des puits ; ajouter 300 µl de solution de lavage 1x par puits, aspirer la solution de lavage et répéter encore 2x la procédure ; tapoter la plaque.
7. Ajouter un substrat		Déposer dans chaque puits 100 µl de solution de substrat prête à l'emploi.
8. Incubation de substrat		Incubation pendant 30 +/- 3 minutes à 20-32 °C / 68-89,6 °F, protéger de la lumière intense.
9. Ajouter une solution d'arrêt		Déposer dans chaque puits 100 µl de solution d'arrêt prête à l'emploi, dans l'ordre d'ajout du substrat.
10. Incubation		Facultatif: Incuber pendant 5 minutes.
11. Mélanger		Agiter soigneusement la plaque pendant 5 secondes.
12. Analyse		Mesurer la densité optique dans les 30 minutes à 450 nm pour une longueur d'onde de référence recommandée de 620 nm.

8.5 Exécution avec application automatisée

Le traitement automatique des tests immunologiques *AESKULISA*® est comparable à l'utilisation manuelle. La procédure de test spécifiée doit être suivie. Les tests immunologiques *AESKULISA*® sont évalués pour être utilisés avec divers analyseurs; les protocoles de test appropriés sont disponibles sur demande. Pour le traitement automatique des tests immunologiques *AESKULISA*® sur d'autres automates, il est recommandé à l'utilisateur de la trousse de test d'évaluer les protocoles de test en collaboration avec le fabricant de l'automate. Le traitement automatique correct des tests immunologiques *AESKULISA*® doit ensuite être validé par l'utilisateur.

9 Évaluation de l'*AESKULISA*®

9.1 Normalisation

Le test *AESKULISA*® Rubella Virus IgG a été normalisé par la norme internationale RUBI-1-94 de l'Organisation mondiale de la santé (OMS). Les résultats quantitatifs sont exprimés en UI/ml. L'étalonnage d'*AESKULISA*® Rubella Virus IgM a été réalisé sur un sérum de référence interne. Les résultats quantitatifs sont exprimés en U/ml.

9.2 Évaluation quantitative

Fondamentalement, l'évaluation quantitative est recommandée pour les tests immunologiques *AESKULISA*®. Pour générer la courbe d'étalonnage, les signaux de mesure optiques (densité optique, DO) des étalons sont tracés en fonction de leur activité d'anticorps (en IU/ml ou U/ml). Les activités d'anticorps des étalons sont indiquées sur le certificat de contrôle qualité spécifique au lot de l'*AESKULISA*®. Il est recommandé d'appliquer une courbe log/in et un modèle de régression logistique 4 paramètres (4 PL) pour l'évaluation. Sur la base de la courbe générée, on déduit des signaux de mesure optiques des échantillons l'activité d'anticorps correspondante.

9.3 Plage de valeurs limites

La plage de valeurs limites du test immunologique *AESKULISA*® est indiquée sur le certificat de contrôle qualité et indique les plages des résultats de mesure limites. L'évaluation d'un échantillon de patient en dessous de la plage de valeurs limites caractérise un résultat de test négatif ; l'évaluation d'un échantillon de patient au-dessus de la plage de valeurs limites est interprétée comme un résultat de test positif. En raison des différents programmes de séroprévalence et de vaccination d'un pays à l'autre, nous recommandons de vérifier les valeurs normales et de les ajuster si nécessaire.

9.4 Plages de mesure

La plage de mesure du test immunologique *AESKULISA*® est indiquée sur le certificat de contrôle qualité. L'étude d'évaluation des performances a démontré la linéarité de dilution des échantillons ainsi qu'un degré élevé de précision et de reproductibilité des résultats de mesure dans ce domaine. Les échantillons qui fournissent des résultats supérieurs à la plage de mesure doivent être évalués comme > max. Les échantillons qui fournissent des résultats inférieurs à la plage de mesure doivent être évalués comme < min. Si les échantillons de patients présentent des valeurs de mesure supérieures à la plage de mesure, ils peuvent être à nouveau analysés dans une dilution supérieure. Pour la quantification, les activités d'anticorps obtenues doivent ensuite être multipliées par le facteur de dilution supplémentaire.

9.5 Évaluation qualitative

L'évaluation qualitative avec les tests immunologiques *AESKULISA*® est basée sur la comparaison de la densité optique (DO) de l'échantillon du patient avec la densité optique moyenne de l'étalon B à double application (étalon *seuil* CAL B). Si la densité optique de l'échantillon du patient se situe dans la plage de +/- 20 % par rapport à la valeur moyenne de la densité optique de l'étalon *seuil* CAL B, cette valeur doit être considérée comme limite. À une densité optique supérieure, l'échantillon du patient doit être considéré comme positif et négatif à une densité optique inférieure.

9.6 Critères de validité

Pour qu'un test soit valide, les critères de validité suivants doivent être remplis :

- DO CAL A < 0,3
- DO CAL A < DO CAL B < DO CAL C < DO CAL D
- DO CAL D > 1,3
- Le contrôle négatif doit être évalué négatif.
- Le contrôle positif ne doit pas être évalué négatif.
- Pour l'application quantitative du test immunologique *AESKULISA*®, le contrôle positif doit être compris dans la plage de validité indiquée sur le certificat de contrôle qualité spécifique au lot d'*AESKULISA*®.
- Pour l'application qualitative des tests immunologiques *AESKULISA*®, les valeurs de densité optique de l'étalon *seuil* B en double (CAL B) ne doivent pas différer de plus de 20 % les unes des autres.

Si ces critères ne sont pas remplis, l'exécution du test n'est pas valide et doit être répétée.

En cas de test non valide, il convient de vérifier la durée de conservation des réactifs (prêts à l'emploi), les conditions de conservation, les durées et températures d'incubation, les pipettes, les laveurs et les cycles de lavage, le photomètre et les autres équipements utilisés. S'il s'avère impossible de déterminer la cause d'un résultat de test non valide ou des écarts de résultats, contacter le fournisseur ou le fabricant de la trousse de test.

9.7 Interprétation des résultats

Un résultat positif au test immunologique *AESKULISA*® confirme la présence d'anticorps spécifiques. Un résultat négatif indique l'absence de toute activité cliniquement significative des anticorps contre l'agent pathogène dans l'échantillon du patient, mais n'exclut pas une nouvelle infection. En cas de résultat marginal, aucune évaluation fiable de l'échantillon du patient n'est possible. Dans ce cas, le test doit être répété en parallèle avec un nouvel échantillon de sérum (paire de sérums) prélevé à une à deux semaines d'intervalle.

La primo-infection est généralement associée à la formation d'anticorps IgM et IgG et à la séroconversion. Après infection, l'activité des anticorps IgM diminue généralement à nouveau, mais peut aussi persister plusieurs mois. Ainsi, des détections positives aux IgM peuvent être dues à des IgM persistants, une stimulation polyclonale antérieure, des réactions croisées à des anticorps dirigés contre d'autres agents pathogènes, ainsi que des facteurs rhumatoïdes. Par conséquent, la seule détection sérologique d'anticorps dirigés contre les IgM du virus de la rubéole n'est pas démontrable pour une infection aiguë au virus de la rubéole. Des examens complémentaires doivent donc toujours confirmer une détection positive d'IgM. L'activité des IgG responsables de la protection immunitaire persiste généralement toute la vie.

Schéma d'interprétation de base des résultats sérologiques

Activité IgM	Activité IgG	Évaluation
négative	négative	Aucun anticorps spécifique détectable. En cas de doute fondé, un autre test est recommandé après une à deux semaines.
positive	négative/positive	Indication d'une infection aiguë. Pour confirmation, des investigations supplémentaires sont recommandées.
négative	positive	Indication d'une infection récente/latence.

L'interprétation des résultats ne peut se faire qu'en relation avec le tableau clinique. Ne jamais faire reposer un diagnostic exclusivement sur les résultats du test effectué ; au contraire, il convient de toujours tenir compte de l'ensemble des résultats des examens cliniques et analyses de laboratoire. Pour confirmation, d'autres investigations doivent être effectuées.

10 Caractéristiques de l'*AESKULISA*®

10.1 Sensibilité et spécificité analytiques

La limite du blanc (LB) a été déterminée en analysant des puits contenant uniquement le tampon de dosage à plusieurs reprises. La limite de détection (LD) a été déterminée en analysant des échantillons négatifs à plusieurs reprises.

	Limite du blanc (LB)	Limite de détection (LD)
AESKULISA® Rubella Virus IgG	0,63 IU/ml	1,29 IU/ml
AESKULISA® Rubella Virus IgM	0,21 U/ml	1,81 U/ml

La spécificité analytique des tests immunologiques *AESKULISA*® a été étudiée en ajoutant des substances potentiellement interférentes aux échantillons et en déterminant leur influence sur les résultats de la mesure. Les effets significatifs de l'hémoglobine (jusqu'à 800 mg/dl), de la bilirubine (jusqu'à 20 mg/dl), du conjugué de bilirubine (jusqu'à 20 mg/dl) et des triglycérides (jusqu'à 3000 mg/dl) n'ont pas pu être démontrés.

10.2 Sensibilité et spécificité diagnostiques

Pour évaluer la sensibilité et la spécificité des tests immunologiques *AESKULISA*® Rubella Virus IgG et IgM, 180 sérums de donneurs de sang et d'individus soupçonnés d'être infectés par le virus de la rubéole ont été testés et leurs résultats comparés à ceux des tests immunologiques Rubella Virus IgG et IgM d'un grand concurrent européen.

	Sensibilité	Spécificité
AESKULISA® Rubella Virus IgG	> 99 %	> 99 %
AESKULISA® Rubella Virus IgM	> 99 %	> 99 %

Pour évaluer la sensibilité et la spécificité, les résultats considérés comme limites n'ont pas été pris en compte.

10.3 Valeurs attendues

L'examen des sérums de donneurs de sang non sélectionnés avec *AESKULISA*® Rubella Virus IgG et IgM a donné la répartition suivante:

AESKULISA®	Nombre d'échantillons	négatif	valeur seuil	positif
Rubella Virus IgG	100	5 (5,0 %)	4 (4,0 %)	91 (91,0 %)
Rubella Virus IgM	100	99 (99,0 %)	0 (0,0 %)	1 (1,0 %)

10.4 Précision

Afin de déterminer la précision et la reproductibilité des résultats de mesure des tests *AESKULISA*® Rubella Virus IgG et IgM, les coefficients de variation intra-test, inter-tests et inter-lots ont été déterminés à l'aide de plusieurs échantillons présentant une activité anticorps différente.

AESKULISA® Rubella Virus IgG

Échantillon	Extinction (DO)	Activité IgG	Intra-test CV (IU/ml)	Inter-test CV (IU/ml)	Inter-lots CV (IU/ml)
Sérum 1	0,308	5,8 IU/ml	5,5 %	6,7 %	11,1 %
Sérum 2	0,822	19,0 IU/ml	8,1 %	10,2 %	13,8 %
Sérum 3	1,451	43,2 IU/ml	6,4 %	6,4 %	8,9 %
Sérum 4	2,090	89,2 IU/ml	5,1 %	6,4 %	10,9 %
Sérum 5	2,181	99,6 IU/ml	7,0 %	8,1 %	10,6 %

AESKULISA® Rubella Virus IgM

Échantillon	Extinction (DO)	Activité IgM	Intra-test CV (U/ml)	Inter-test CV (U/ml)	Inter-lots CV (U/ml)
Sérum 1	0,259	5,3 U/ml	3,8 %	6,9 %	16,1 %
Sérum 2	0,551	12,7 U/ml	5,8 %	8,4 %	11,2 %
Sérum 3	0,852	24,2 U/ml	6,5 %	6,7 %	11,3 %
Sérum 4	0,911	26,6 U/ml	3,1 %	5,0 %	16,4 %
Sérum 5	1,181	36,0 U/ml	6,6 %	6,5 %	10,0 %

Des rapports d'étude plus détaillés portant sur d'autres caractéristiques de performances telles que la sensibilité et la spécificité analytiques, la justesse, la précision, l'exactitude, la récupération, la linéarité, les limites de détection et la plage de mesure sont disponibles sur demande.

11 Consignes de sécurité

11.1 Avertissements et mesures de précaution

Les tests immunologiques *AESKULISA*® sont exclusivement destinés au diagnostic *in vitro* et à un personnel qualifié, maîtrisant parfaitement les techniques de travail. Les bonnes pratiques de laboratoire reconnues s'appliquent à la manipulation des réactifs de test et des échantillons de patients. Si le produit est endommagé ou si les informations relatives au produit, y compris les étiquettes, s'avéraient fausses ou incorrectes, contacter le fabricant ou le fournisseur de la trousse de test.

Ne pas pipeter à la bouche. Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones où vous utilisez des réactifs de test ou des échantillons de patients. Lors de la manipulation des réactifs de test et des échantillons de patients, éviter tout contact direct en portant une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection. Ensuite, se laver soigneusement les mains.

Le produit contient des dilutions de sérum humain. Bien que tous les sérums utilisés aient été testés négatifs aux anticorps anti-VIH 1 et 2, HBsAg (antigène de surface du virus de l'hépatite B) et aux anticorps anti-VHC, ils doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Le produit contient également des composants d'origine animale. Les manipuler conformément aux directives nationales applicables.

Étant donné que différents composants de la trousse contiennent des réactifs potentiellement dangereux, ils peuvent provoquer une irritation oculaire et cutanée.

Chaque composant contient de l'azoture de sodium (NaN_3) utilisé comme conservateur. L'azoture de sodium peut être toxique en cas d'ingestion, d'absorption par la peau ou de contact avec les yeux. L'azoture de sodium peut former des azotures métalliques hautement explosifs en présence de plomb et de cuivre. Pour éviter l'accumulation d'azoture, rincer abondamment à l'eau lors de l'élimination de ces solutions.

Les étalons et les contrôles, ainsi que les échantillons de patients, doivent être considérés comme potentiellement infectieux et traités conformément aux directives nationales. Les échantillons de patients et tous les matériels potentiellement infectieux doivent être décontaminés après le test.

Les réactifs doivent être tenus hors de portée des enfants.

Tout incident grave survenant dans le cadre de l'utilisation du dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre où l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Un document de synthèse sur la sécurité et les performances est disponible auprès d'Eudamed ainsi que sur demande.

11.2 Élimination

Pour la décontamination et l'élimination, respecter les recommandations du CDC ainsi que les réglementations locales et nationales en vigueur !

12 Références

Dimech, W., Grangeot-Keros, L., Vauloup-Fellous, C. (2016) Standardization of Assays That Detect Anti-Rubella Virus IgG Antibodies. Clin. Microbiol. Rev. *29*, 163 – 74.

Mankertz, A. (2014) Röteln. AWMF-Leitlinie zur Labordiagnostik schwangerschaftsrelevanter Virusinfektionen.

Lambert, N., Strebel, P., Orenstein, W., Icenogle, J., Poland, G. A. (2015) Rubella. Lancet *385*, 2297 – 307.

13 Symboles réglementaires

IVD	- Diagnosi in vitro	- For in vitro diagnostic use
	- Pour diagnostic in vitro	- Para uso diagnóstico in vitro
	- In Vitro Diagnostikum	- In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	- Para uso Diagnóstico in vitro	
REF	- Numero d'ordine	- Cataloge number
	- Référence Catalogue	- Numéro de catálogo
	- Bestellnummer	- Αριθμός παραγγελίας
	- Número de catálogo	
LOT	- Descrizione lotto	- Lot
	- Lot	- Lote
	- Chargen Bezeichnung	- Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Lote	
UDI	- Identificatore univoco del dispositivo	- Unique Device Identifier
	- Identifiant unique de l'appareil	- Identificador único del dispositivo
	- eindeutige Produktidentifizierung	- Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
	- Identificador único do dispositivo	
CE	- Conformità europea	- EC Declaration of Conformity
	- Déclaration CE de Conformité	- Declaración CE de Conformidad
	- Europäische Konformität	- Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- Déclaracão CE de Conformidade	
Σ 96	- 96 determinazioni	- 96 tests
	- 96 tests	- 96 pruebas
	- 96 Bestimmungen	- 96 προσδιορισμοί
	- 96 Testes	
	- Rispettare le istruzioni per l'uso	- See instructions for use
	- Voir les instructions d'utilisation	- Ver las instrucciones de uso
	- Gebrauchsanweisung beachten	- Λάβετε υπόψη τις οδηγίες χρήσης
	- Ver as instrucões de uso	
	- Da utilizzarsi entro	- Use by
	- Utilise avant le	- Utilizar antes de
	- Verwendbar bis	- Χρήση μέχρι
	- Utilizar antes de	
+2°C +8°C	- Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Store at 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)	
	- Prodotto da	- Manufactured by
	- Fabriqué par	- Fabricado por
	- Hergestellt von	- Κατασκευάζεται από
	- Fabricado por	
CO-CAL	- Calibratore cut-off	- Cut off Calibrator
	- Etalon Seuil	- Calibrador de cut-off
	- Grenzwert Kalibrator	- Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador de cut-off	
CON +	- Controllo positivo	- Positive Control
	- Contrôle Positif	- Control Positivo
	- Positiv Kontrolle	- Θετικός ορός ελέγχου
	- Controlo positivo	
CON −	- Controllo negativo	- Negative Control
	- Contrôle Négatif	- Control Negativo
	- Negativ Kontrolle	- Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Controlo negativo	
CAL	- Calibratore	- Calibrator
	- Etalon	- Calibrador
	- Kalibrator	- Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador	
CONJ	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	
MP	- Micropiastra rivestita	- Coated microtiter plate
	- Microplaque sensibilisée	- Microplaca sensibilizada
	- Beschichtete Mikrotiterplatte	- Επικαλυμμένη μικροπλάκα
	- Microplaca revestida	
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio	- Wash buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solucão de lavagem	
SUB	- Tampone substrato	- Substrate buffer
	- Substrat	- Tampón sustrato
	- Substratpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	- Substrato	
STOP	- Reagente bloccante	- Stop solution
	- Solution d'Arrêt	- Solución de parada
	- Stopreagenz	- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
	- Solucão de paragem	
SB 5x	- Tampone campione	- Sample buffer
	- Tampon Echantillons	- Tampón Muestras
	- Probenpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Diluente de amostra	