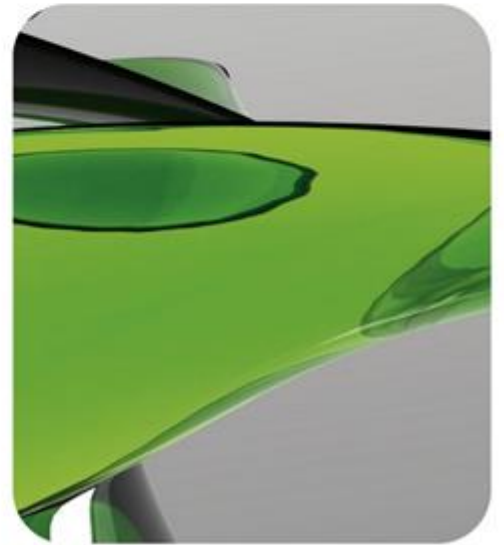




AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA[®]
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MODE
D'EMPLOI

AESKULISA[®] SARS-CoV-2 S1 IgA / IgG / IgM
Ref 6124 / 6125 / 6126



Mises à jour	
Version actuelle	V.002 du 07/04/2021
Version précédente	V.001 du 05/10/2020
Modifications de chapitres	1; 10; 11.1
Motif des modifications	IVDR Actualisation



AESKU.DIAGNOSTICS GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim, Germany
Tél. : +49-6734-9622-0
Fax : +49-6734-9622-2222
Info@aesku.com
www.aesku.com

Sommaire

1	Utilisation prévue	3
2	Valeur diagnostique	3
3	Principe du test <i>AESKULISA</i> ®	4
4	Antigène	4
5	Composants de l' <i>AESKULISA</i> ®	4
6	Matériel requis supplémentaire	5
7	Conservation et stabilité.....	5
8	Exécution du test <i>AESKULISA</i> ®	5
8.1	Remarques générales	5
8.2	Préparation des réactifs	6
8.2.1	Barrettes de microtitration (prêtes à l'emploi)	6
8.2.2	Étalons (prêts à l'emploi)	6
8.2.3	Contrôles (prêts à l'emploi)	6
8.2.4	Diluant pour échantillon (5x conc.).....	7
8.2.5	Tampon de lavage (50x conc.).....	7
8.2.6	Conjugué POD anti-IgA, IgG ou IgM humain (prêt à l'emploi)	7
8.2.7	Substrat (prêt à l'emploi)	7
8.2.8	Solution d'arrêt (prête à l'emploi)	7
8.3	Préparation de l'échantillon.....	7
8.3.1	Type d'échantillon.....	7
8.3.2	Dilution d'échantillon	7
8.3.3	Absorption du facteur rhumatoïde avec <i>AESKULISA</i> ® IgM	7
8.3.4	Conservation des échantillons	8
8.4	Exécution.....	8
8.4.1	Tableau de pipetage	8
8.4.2	Déroulement du test	8
8.5	Exécution avec application automatisée	10
9	Évaluation de l' <i>AESKULISA</i> ®	10
9.1	Normalisation.....	10
9.2	Évaluation quantitative.....	10
9.3	Plage de valeurs limites	10
9.4	Plages de mesure.....	10
9.5	Évaluation qualitative.....	11
9.6	Critères de validité	11
9.7	Interprétation des résultats	11
10	Caractéristiques de l' <i>AESKULISA</i> ®	12
10.1	Sensibilité et spécificité analytiques	12
10.2	Sensibilité et spécificité diagnostiques	12
10.3	Valeurs attendues.....	13
10.4	Précision.....	13
11	Consignes de sécurité	15
11.1	Avertissements et mesures de précaution	15
11.2	Élimination	15
12	Références	16

1 Utilisation prévue

Les tests AESKULISA® SARS-CoV-2 S1 IgA, IgG et IgM sont des tests immunologiques qualitatifs et quantitatifs destinés à la détection des anticorps IgA, IgG et IgM humains dirigés contre le domaine S1 de la protéine glycosylée spike de SARS-CoV-2 dans le sérum ou le plasma. Les tests AESKULISA® SARS-CoV-2 S1 IgM et IgA contribuent à détecter les infections aiguës. Le test AESKULISA® SARS-CoV-2 S1 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 SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) est un coronavirus associé au SRAS (*syndrome respiratoire aigu sévère*), pathogène pour l'être humain, et l'agent responsable du COVID-19 (*Corona Virus Disease 2019*). Ce virus de 120 à 160 nm de diamètre possède une enveloppe virale dans laquelle sont stockées plusieurs protéines membranaires telles que la protéine glycosylée spike (S), la protéine d'enveloppe (E) et la protéine de matrice (M). À l'intérieur du virus se trouve une capsidie synthétisée par la protéine de la nucléocapsidie (N) qui complexe l'ARN simple brin de polarité positive. La protéine spike (S) est constituée de deux domaines, S1 et S2. Le domaine S1 assure la liaison au récepteur de surface de l'ECA 2 (*enzyme de conversion de l'angiotensine 2*) de la cellule hôte, tandis que le domaine S2 favorise la fusion du virus avec la membrane cellulaire.

La transmission interhumaine s'effectue principalement par des gouttelettes. En principe, une infection par des surfaces contaminées est également possible. La période d'incubation dure en règle générale cinq à six jours, mais peut s'étendre à 14 jours. Pendant la période d'incubation, la transmission du virus à d'autres personnes est possible, même en l'absence de symptômes.

Les formes pathologiques sont peu spécifiques, diverses et fortement variables. Outre des infections cliniquement inapparentes, des formes légères à modérées caractérisées par des symptômes pseudo-grippaux et une toux sèche ont été décrites. Chez la plupart des patients, la maladie se manifeste par une fièvre, des maux de gorge, des céphalées et des courbatures, ainsi qu'une pneumonie légère. Dans certains cas, une évolution vers une forme grave avec détresse respiratoire a été rapportée. Chez les patients à risque, atteints de pathologies sous-jacentes, ou chez les personnes de plus de 60 ans en particulier, des pneumonies mettant en jeu le pronostic vital et parfois d'issue fatale peuvent survenir. Dans les formes légères, les symptômes régressent en général dans un délai de deux semaines. Dans les formes graves, la maladie peut durer entre trois et six semaines.

Le tableau clinique d'une infection à COVID-19 étant extrêmement variable, le diagnostic de laboratoire revêt une grande importance. À cette fin, des méthodes de détection directes et indirectes sont à disposition. Au cours des premiers jours suivant l'infection, la détection directe de l'agent pathogène à l'aide de la technique de RT-PCR (réaction en chaîne par polymérase) effectuée sur des prélèvements des voies aériennes (expectoration, aspiration trachéale, lavage broncho-alvéolaire (BAL) ou frottis nasopharyngé) constitue la méthode à privilégier. Les méthodes de détection indirectes par le dosage sérologique des IgA, des IgG ou des IgM complètent les techniques de détection directe et permettent de diagnostiquer le COVID-19 au cours de l'infection.

En outre, la détection des anticorps permet de déterminer le statut immunitaire, d'identifier les personnes qui ont déjà été en contact avec l'agent pathogène et de recueillir ainsi des données épidémiologiques.

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 par le test **AESKULISA® SARS-CoV-2 S1 IgA, IgG et IgM** se fonde sur l'utilisation du domaine S1 de la protéine glycosylée spike du SARS-CoV-2.

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 ₂ O 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 purifiée (*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 et 8 °C, 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 et 8 °C.

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. 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) 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° et 8 °C. Une conservation prolongée des échantillons est possible à des températures ≤ -20 °C. Il convient d'éviter les cycles de décongélation et de congélation répétés.

8.4 Exécution

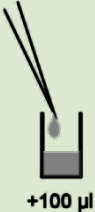

8.4.1 Tableau de pipetage

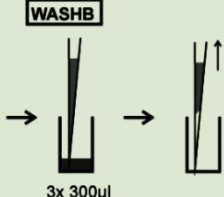


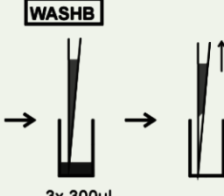


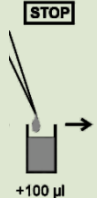

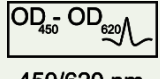
En fonction de l'application quantitative ou qualitative envisagée du test immunologique AESKULISA®, le tableau de pipetage suivant est recommandé :

	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 <i>seuil</i>		
	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 à 32 °C.

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 à 32 °C.
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 à 32 °C, 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

L'étalonnage des tests immunologiques *AESKULISA*® SARS-CoV-2 S1 IgA, IgG et IgM s'effectue à l'aide de sérums de référence internes. 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.

Une primo-infection est généralement associée à la formation d'anticorps IgA et IgG. Plusieurs semaines après une infection, l'activité anticorps IgA diminue, tandis que l'activité anticorps IgG persiste nettement plus longtemps.

Des réactions croisées des anticorps contre d'autres coronavirus, en particulier le SARS-CoV-1, ne sont pas à exclure et compliquent l'interprétation des résultats des tests sérologiques.

Schéma d'interprétation de base des résultats sérologiques

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

L'interprétation des résultats ne se fait qu'en relation avec le tableau clinique. Ne jamais faire reposer un diagnostic exclusivement sur les résultats du test effectué ; il faut au contraire 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 ® SARS-CoV-2 S1 IgA	0,53 U/ml	1,80 U/ml
AESKULISA ® SARS-CoV-2 S1 IgG	0,28 U/ml	1,71 U/ml
AESKULISA ® SARS-CoV-2 S1 IgM	0,41 U/ml	2,17 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

Afin de calculer la sensibilité du test immunologique **AESKULISA**® SARS-CoV-2 S1 IgG (IgA / IgM), 69 (39 / 16) sérums de patients avec suspicion clinique d'une infection par le SARS-CoV-2 et positifs au test de détection des anticorps IgG (IgA / IgM) ont été analysés. La spécificité du test immunologique a été déterminée en analysant 110 (99 / 96) sérums de donneurs de sang non sélectionnés négatifs au test de détection des anticorps IgG (IgA / IgM). Les résultats du test immunologique **AESKULISA**® SARS-CoV-2 S1 IgG (IgA / IgM) ont été comparés à ceux du test immunologique de détection des IgG (IgA / IgM) anti-SARS-CoV-2 d'un fournisseur européen.

	Sensibilité	Spécificité
AESKULISA ® SARS-CoV-2 S1 IgA	94,6 %	> 99 %
AESKULISA ® SARS-CoV-2 S1 IgG	98,6 %	> 99 %
AESKULISA ® SARS-CoV-2 S1 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® SARS-CoV-2 S1 IgA, IgG et IgM a donné la répartition suivante:

AESKULISA®	Nombre d'échantillons	négatif	valeur seuil	positif
SARS-CoV-2 S1 IgA	100	100 (100 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
SARS-CoV-2 S1 IgG	100	100 (100 %)	0 (0,0 %)	0 (0,0 %)
SARS-CoV-2 S1 IgM	100	98 (98,0 %)	2 (2,0 %)	0 (0,0 %)

10.4 Précision

Afin de déterminer la précision et la reproductibilité des résultats de mesure des tests AESKULISA® SARS-CoV-2 S1 IgA, 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® SARS-CoV-2 S1 IgA

Échantillon	Extinction (DO)	Activité IgA	Intra-test CV (U/ml)	Inter-test CV (U/ml)	Inter-lots CV (U/ml)
Sérum 1	0,165	3,5 U/ml	4,1 %	5,2 %	5,5 %
Sérum 2	0,352	8,7 U/ml	2,7 %	3,4 %	3,2 %
Sérum 3	0,774	22,5 U/ml	2,9 %	4,5 %	5,7 %
Sérum 4	0,997	31,0 U/ml	2,7%	5,1 %	6,5 %
Sérum 5	1,611	60,3 U/ml	4,8 %	7,5 %	7,0 %

AESKULISA® SARS-CoV-2 S1 IgG

Échantillon	Extinction (DO)	Activité IgG	Intra-test CV (U/ml)	Inter-test CV (U/ml)	Inter-lots CV (U/ml)
Sérum 1	0,176	3,0 U/ml	4,1 %	7,5 %	12,7 %
Sérum 2	0,733	17,9 U/ml	2,6 %	8,3 %	13,1 %
Sérum 3	0,937	24,9 U/ml	3,3 %	6,3 %	12,3 %
Sérum 4	1,421	46,9 U/ml	2,7%	6,5 %	10,2 %
Sérum 5	1,891	76,0 U/ml	3,8 %	4,4 %	5,4 %

AESKULISA® SARS-CoV-2 S1 IgM

Échantillon	Extinction (DO)	Activité IgM	Intra-test CV (U/ml)	Inter-test CV (U/ml)	Inter-lots CV (U/ml)
Sérum 1	0,199	4,5 U/ml	5,3 %	6,9 %	18,4 %
Sérum 2	0,392	10,0 U/ml	3,0 %	7,2 %	4,4 %
Sérum 3	0,672	19,0 U/ml	3,3 %	6,9 %	10,1 %
Sérum 4	1,029	32,6 U/ml	3,3 %	5,9 %	9,1 %
Sérum 5	1,538	59,7 U/ml	2,6 %	3,9 %	5,6 %

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

Acter, T., Uddin, N., Das, J., Akhter, A., Choudhury, T.R., Kim, S. (2020) Evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) as coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: A global health emergency. *Sci. Total Environ.* 730, 138996.

Azkur, A. K., Akdis, M., Azkur, D., Sokolowska, M., van de Veen, W., Brügger, M.-C., O'Mahony, L., Gao, Y., Nadeau, K., Akdis, C. A. (2020) Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. *Allergy* 75, 1564 – 81.

Guo, L. *et al.* (2020) Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin. Infect. Dis.* 71, 778 – 85.

Lai, C.C., Shih, T.P., Ko, W.C., Tang, H.J., Hsueh, P.R. (2020) Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 55, 105924.

Satarker, S., Nampoothiri, M. (2020) Structural Proteins in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. *Arch. Med. Res.* 51, 482 – 91.

Wu, D., Wu, T., Liu, Q., Yang, Z. (2020) The SARS-CoV-2 outbreak: What we know. *Int. J. Infect. Dis.* 94, 44 – 8.

Simboli sulle etichette / Symbols on labels / Symboles sur étiquettes / Símbolos sobre las etiquetas / Symbole auf den Etiketten / Σύμβολα στις ετικέτες / Símbolos nos rótulos



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



Numero d'ordine, Catalogue number, Référence Catalogue, Numéro de catálogo, Bestellnummer, Αριθμός παραγγελίας, Número de catálogo



Descrizione lotto, Lot, Lot, Lote, Chargen Bezeichnung, Χαρακτηρισμός παρτίδας, Lote



Conformità europea, EC Declaration of Conformity, Déclaration CE de Conformité, Declaración CE de Conformidad, Europäische Konformität, Ευρωπαϊκή συμφωνία, Declaração CE de Conformidade



96 determinazioni, 96 tests, 96 tests, 96 ensayos, 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 instruções de uso



Da utilizzarsi entro, Use by, Utilise avant le, Utilizar antes de, Verwendbar bis, Χρήση μέχρι, Utilizar antes de



Conservare a 2-8°C, Store at 2-8°C (35-46°F), Conserver à 2-8°C, Conservar a 2-8°C, Lagerung bei 2-8°C, Φυλάσσεται στους 2-8°C, Conservar entre 2-8°C



Prodotto da, Manufactured by, Fabriqué par, Fabricado por, Hergestellt von, Κατασκευάζεται από, Fabricado por



Calibratore cut-off, Cut off Calibrator, Etalon Seuil, Calibrador de cut-off, Grenzwert Kalibrator, Οριακός ορός Αντιδραστήριο αθμονόμησης, Calibrador de cut-off



Controllo positivo, Positive Control, Contrôle Positif, Control Positivo, Positiv Kontroll, Θετικός ορός ελέγχου, Controllo positivo



Controllo negativo, Negative Control, Contrôle Négatif, Control Negativo, Negativ Kontrolle, Αρνητικός ορός ελέγχου, Controllo negativo



Calibratore, Calibrator, Etalon, Calibrador, Kalibrator, Αντιδραστήριο βαθμονόμησης, Calibrador



Recupero, Recovery, Corrélation, Recuperado, Wiederfindung, Ανάκτηση, Recuperação



Coniugato, Conjugate, Conjugé, Conjugado, Konjugat, Σύζευγμα, Conjugado,

MP

Micropiastra rivestita, Coated microtiter plate, Microplaque sensibilisée, Microplaca recubierta, Beschichtete Mikrotiterplatte, Επικαλυμμένη μικροπλάκα, Microplaca revestida

WASHB

Tampone di lavaggio, Wash buffer, Tampon de Lavage, Tampón de lavado, Waschpuffer, Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης, Solução 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, Solução de paragem

SB

Tampone campione, Sample buffer, Tampon Echantillons, Tampón de muestra, Probenpuffer, Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων, Diluente de amostra