

DOMAINE D'UTILISATION

Le test Clarus SARS-CoV-2 Total Antibody EIA est un test immunoenzymatique destiné à la détection qualitative des anticorps totaux (IgM/IgA/IgG) dirigés contre le SARS-CoV-2 dans le sérum humain. Le test clarus SARS-CoV-2 Total Antibody EIA est destiné à aider à identifier les patients présentant une réponse immunitaire adaptative au SARS-CoV-2, indiquant une infection récente ou passée. À l'heure actuelle, on ignore combien de temps les anticorps persistent après l'infection et si la présence d'anticorps confère une immunité protectrice. Le test Clarus SARS-CoV-2 Total Antibody EIA ne doit pas être utilisé pour diagnostiquer une infection aiguë par le CoV-2 SRAS. Aux États-Unis, les tests sont limités aux laboratoires certifiés en vertu des Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA), 42 U.S.C 263a, pour effectuer des tests de grande complexité. En dehors des États-Unis, les tests sont limités à un usage par les professionnels de laboratoire.

Les résultats concernant la détection des anticorps anti-CoV-2 du SRAS. Les anticorps totaux (IgG/IgA/IgG) contre le CoV-2 du SRAS sont généralement détectables dans le sang plusieurs jours après l'infection initiale, bien que la durée de présence des anticorps après l'infection ne soit pas bien caractérisée. Le virus peut être détecté chez certains individus plusieurs semaines après la séroconversion.

Les laboratoires des États-Unis et de leurs territoires sont tenus de signaler tous les résultats positifs aux autorités de santé publique compétentes.

La sensibilité du test Clarus SARS-CoV-2 Total Antibody EIA au début de l'infection est encore inconnue. Des résultats négatifs n'excluent pas une infection aiguë par le CoV-2-SARS. Si une infection aiguë est suspectée, un test direct de dépistage du CoV-2-SARS est nécessaire.

Des résultats faussement positifs par le test Clarus SARS-CoV-2 Total Antibody EIA peuvent survenir en raison d'une réactivité croisée d'anticorps préexistants ou d'autres causes possibles.

Aux États-Unis, le test clarus SARS-CoV-2 Total Antibody EIA est uniquement destiné à être utilisé dans le cadre de l'autorisation d'utilisation d'urgence de la Food and Drug Administration.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

Le SARS-CoV-2 est le virus responsable de la COVID-19. Le SARS-CoV-2 est un coronavirus présentant une homologie de séquence significative avec le SRAS-CoV-1 et les coronavirus de chauve-souris¹. Le SRAS-CoV-2 est le septième coronavirus à provoquer une maladie chez l'homme, apparu fin 2019 dans la ville de Wuhan, province de Hubei, en Chine². Le diagnostic actuel est basé sur la détection de l'ARN viral par PCR en temps réel (RT-PCR)³. Des tests sérologiques pourraient servir de complément à cette approche diagnostic. Les anticorps sériques anti-coronavirus commencent à apparaître entre 5 et 17 jours après le début de la maladie, avec un temps médian de 11 jours^{3,4}. La détection des anticorps totaux a été signalée comme la méthode de détection des immunoglobulines la plus sensible et la plus spécifique^{4,5}. La détection des anticorps contre cette maladie sera utile pour l'identification de la prévalence et de l'exposition à la maladie dans certaines populations.

PRINCIPE BIOLOGIQUE

Le test Clarus SARS-CoV-2 Total Ab EIA est un test immunoenzymatique de type sandwich simultané utilisant l'antigène conjugué comme réactif de détection. Le test Clarus SARS-CoV-2 Total Ab EIA utilise des antigènes recombinants SARS-CoV-2 pré-adsorbés dans des micropuits. Les échantillons de patients et les contrôles sont ajoutés à tous les puits, puis l'antigène conjugué à la peroxydase de raifort (HRP) est distribué dans les micropuits. La plaque scellée est incubée sous agitation, puis lavée avant l'ajout d'un substrat. La réaction est stoppée par l'ajout de la solution d'arrêt dans tous les micropuits. Le résultat est ensuite analysé sur un lecteur de microplaques capable de lire à double longueur d'onde (450 nm avec une longueur d'onde de référence de 620/630 nm). Les résultats sont interprétés par comparaison avec un calibrateur. La densité optique (D.O) de l'échantillon est divisée par la D.O. moyenne du calibrateur pour déterminer les valeurs en unité EIA. Ce test détecte toutes les classes d'immunoglobulines et aucune différenciation n'est possible entre les différents isotypes.

AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS

Pour usage diagnostique in vitro uniquement.

Pour usage sur prescription médicale uniquement.

Aux États-Unis : Pour utilisation sous une autorisation d'utilisation d'urgence (EUA) uniquement.

AVERTISSEMENTS AUX UTILISATEURS

- L'utilisation de ce kit avec des échantillons autres que le sérum humain n'est pas recommandée.
- Le contrôle positif et le contrôle négatif sont fabriqués à partir de sérum humain négatif pour les anticorps contre le VIH, VHB, l'AgHBs, VHC, CMV, Chagas, le HTLV, la syphilis, le West Nile Virus et le virus Zika. Les deux réactifs de contrôle sont d'origine humaine et la quantité d'agents étiologiques présents dans les contrôles est inconnue. Les contrôles sont bio-dangereux et doivent être traités comme du matériel de patient infecté. Toutes les précautions et mesures de prévention en vigueur pour tester les patients doivent être prises avec ces contrôles.
- Porter des vêtements de protection, y compris une blouse de laboratoire, des lunettes de protection et des gants jetables, et manipuler les réactifs du kit et les échantillons des patients en respectant les recommandations de bonnes pratiques de laboratoire. Se laver soigneusement les mains après avoir effectué le test.

4. Maintenir des techniques et un schéma de pipetage appropriés tout au long de la procédure pour garantir des résultats optimaux et reproductibles

5. Évitez les éclaboussures lors de la distribution ou de l'aspiration de réactifs ou d'échantillons dans les micropuits, car cela peut entraîner des erreurs.

6. Un lavage inadéquat peut entraîner un bruit de fond excessif dans tout test ELISA.

7. Les éclaboussures d'origine biologique doivent être soigneusement essuyées avec un désinfectant efficace. Les désinfectants recommandés comprennent (mais ne sont pas limités à) une solution de 10% d'eau de Javel, 70% d'éthanol, ou 0,5% de Wescodyne Plus™. Les matériaux utilisés pour essuyer les éclaboussures doivent être traités et éliminés comme des déchets biologiques dangereux.

8. Éliminez tous les échantillons et matériaux utilisés pour effectuer le test comme s'ils étaient potentiellement infectieux. Les déchets chimiques et bio-dangereux des laboratoires doivent être manipulés et éliminés conformément à toutes les réglementations locales, régionales et nationales.

9. Évitez tout contact avec la solution d'arrêt (acide méthanesulfonique) (REF EIASS2). En cas d'exposition de la peau ou des yeux, rincer immédiatement et abondamment à l'eau.










10. Le test SARS-CoV-2 Total Antibody EIA (REF COV105) présente un risque biologique après utilisation. Manipuler et éliminer en conséquence.

11. Se reporter à la section "Dangers et précautions" pour connaître les dangers associés à des réactifs spécifiques. Les fiches de données de sécurité sont disponibles sur demande.

PRECAUTIONS SUR LES RÉACTIFS

- Une normalisation spécifique est nécessaire pour produire nos réactifs et matériaux de haute qualité. L'utilisateur assume l'entière responsabilité de toute modification des procédures publiées ici.
- Lors de la manipulation des échantillons de patients, des mesures adéquates doivent être prises pour éviter l'exposition aux agents étiologiques potentiellement présents dans les échantillons.
- Porter toujours des gants lorsque de la manipulation des réactifs de ce kit, car certains réactifs sont conservés avec moins de 0,1 % (p/p) d'azide de sodium. L'azide de sodium ne doit jamais être jeté à l'égout car ce produit chimique peut réagir avec les tuyauteries en plomb ou en cuivre pour former des azides métalliques potentiellement explosifs. Les réactifs excédentaires doivent être éliminés dans un récipient à déchets approprié.
- Pour les installations utilisant des systèmes de lavage automatisés, utiliser un faible débit de distribution afin d'éviter de disperser les réactifs adsorbés dans le puits. Si un signal faible est observé, réduire la pression de distribution du système de lavage.

RÉACTIFS

- Micropuits enduits d'Antigènes (5 plaques, 96 micropuits/plaques) (REF COVMW1)**  96- micropuits sécables en polystyrene, enduits d'antigènes du SARS-CoV-2
- Calibrateur Seuil (1.5 mL) (REF COVCC)**  - Anticorps anti-SARS-CoV-2 dans une solution tamponnée avec un conservateur permettant d'établir une valeur pour le calcul des unités EIA
- Conjugué (28 mL) (REF COVD A1)**  - Antigène SARS-CoV-2 conjugué à la HRP dans une solution tamponnée contenant un conservateur
- Tampon de Lavage (60 mL) (REF EIAWB1)**  Tampon de lavage concentré 20X contenant un conservateur
- Substrat TMB (55 mL) (REF EIATUS)**  - solution tamponnée contenant du tetraméthylbenzidine (TMB). Conserver à l'abri de la lumière
- Solution D'arrêt (55 mL) (REF EIASS2)**   Acid méthanesulfonique
**Attention : peut être corrosive sur certains métaux. H290, P234, P390, P406*
- Contrôle Positif (1 mL) (REF COVPC1)**  - Sérum humain contenant des anticorps anti-SARS-CoV-2 en solution tamponnée avec conservateur.
- Contrôle Négatif (1 mL) (REF COVNC1)**  - Sérum humain ne contenant pas d'anticorps anti-SARS-CoV-2 en solution tamponnée avec conservateur.
- Notice d'utilisation**
- Feuilles adhésifs (5/kit)**

MATÉRIELS NON FOURNIS

- Eau distillée ou déionisée, pour la dilution du tampon de lavage concentré
- Gants jetables
- Papier absorbant
- Minuteur
- Eprouvette pour la dilution du tampon de lavage
- Pipettes capables de délivrer des volumes de 50 à 300 µl et embouts jetables
- Agitateur pour microplaques de 3 mm de rayon pouvant atteindre au moins 300-400 tours/minute
- Laveuse de microplaques ou pipette multicanaux pour le lavage
- Lecteur de microplaques capable de lire les absorbances à 450 et 620/630 nm
- Conteneur pour déchets à risques biologiques

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Préparer une solution 1X de tampon de lavage en mélangeant 19 volumes d'eau déionisée avec 1 volume de tampon de lavage 20X (REF EIAWB1). Une fois préparé, le tampon de lavage 1X est stable pendant 1 mois lorsqu'il est stocké à 2-8°C.

STABILITÉ ET CONSERVATION

Tous les réactifs fournis dans ce kit doivent être conservés à la température indiquée (2-8°C) jusqu'aux dates d'expiration indiquées sur les étiquettes des réactifs.

Les micropuits non utilisés doivent être remis dans le sachet en mylar, scellés immédiatement après ouverture et conservés à une température de 2 à 8°C. Veiller à ce que le sachet de dessiccant reste dans le sachet avec les micropuits non utilisés.

Les réactifs de contrôle inclus dans ce kit doivent être conservés à la température indiquée (2-8°C) jusqu'aux dates d'expiration indiquées sur les étiquettes des réactifs.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS ET PRÉPARATION

Utiliser des techniques établies par du personnel qualifié, prélever des échantillons de manière aseptique. **Les échantillons doivent être prélevés par un professionnel de la santé. L'auto-prélèvement n'est pas autorisé.** Lors de la manipulation des échantillons de patients, des mesures adéquates doivent être prises pour éviter l'exposition à des agents étiologiques. Ce test n'a pas été validé sur des échantillons autres que le sérum. Pour obtenir des résultats optimaux, il convient d'utiliser des échantillons stériles non hémolysés. Prélever les échantillons de sérum de manière aseptique en suivant les procédures établies. En cas de retard dans le traitement des échantillons, conserver les échantillons au maximum 5 jours à 2-8°C. Les sérums peuvent être conservés plus longtemps à <-20°C, à condition qu'ils ne soient pas décongelés et recongelés à plusieurs reprises. Les sérums en transit doivent être maintenus à 2-8°C ou <-20°C.

PROCÉDURE

SE REPORTER AU PARAGRAPHE "RÉACTIFS" POUR OBTENIR LA LISTE DES MATÉRIELS FOURNIS.

- Récupérer tous les réactifs nécessaires et les équilibrer à température ambiante.
- Prélever un nombre suffisant de micropuits recouverts d'antigènes pour les échantillons de patients et les contrôles et les insérer dans le support de micropuits, en notant la position de chaque échantillon et contrôle.
- Ajouter 50 µl de contrôle positif dans un puits désigné.
- Ajouter 50 µl de contrôle négatif dans un puits désigné.
- Ajouter 50 µl de Calibrateur Seuil dans **deux micropuits**.
- Ajouter 50 µl d'échantillons de patients aux micropuits. Cette opération doit être effectuée avant l'ajout du conjugué.
- Ajouter 50 µl de solution conjuguée à tous les puits.
- Sceller soigneusement la plaque à l'aide du feuillet adhésif fourni. Tous les micropuits utilisés doivent être scellés.
- Agiter vigoureusement pendant 30 minutes (+/- 1 minute) à 20-25°C à un minimum de 300-400 tours/minute.
- Aspirer tout le contenu des puits. Si possible, l'extraction manuelle du contenu permettra de nettoyer moins fréquemment les laveurs de plaques automatisés.
- Laver la plaque **4 fois avec 300 µl** de tampon de lavage 1X.
- Tapoter la microplaque à l'envers (fond des micropuits vers le haut) contre du papier absorbant propre afin d'éliminer l'humidité résiduelle.
- Ajouter 100 µl de TMB et incubé à 20-25°C pendant 20 minutes (+/- 1 minute) sans agitation.
- Ajouter 100 µl de solution d'arrêt
- Lisez et notez les résultats (voir LECTURE DES RÉSULTATS).

LECTURE DES RÉSULTATS

- Mélangez en tapant doucement sur le côté de la microplaque ou en secouant sur le support pendant 1 à 5 secondes.
- Essayez soigneusement le dessous des micropuits avec un papier absorbant propre et non pelucheux.
- Lire la densité optique de chaque micropuits à 450 nm et à 620/630 nm. Les valeurs de DO corrigées seront utilisées pour l'interprétation (voir la section Interprétation des résultats ci-dessous). Les résultats doivent être lus dans les 15 minutes suivant l'ajout de la solution d'arrêt.
- Éliminer tout matériel de test utilisé comme déchet dangereux et conserver le support de micropuits.
- Désinfecter le support de micropuits avec un désinfectant tel que :
 - Solution d'eau de Javel à 10 %.
 - 70 % d'éthanol
 - 1% Lysol marque I.C.™

REMARQUE : Si un automate est utilisé pour effectuer les tests, contacter le fabricant de l'équipement pour obtenir des instructions supplémentaires.

CONTRÔLE QUALITÉ

Des contrôles supplémentaires peuvent être testés selon les directives ou les exigences des réglementations locales, étatiques et/ou fédérales ou des organismes d'accréditation.

Calculer la moyenne des valeurs corrigées de la D.O. du calibrateur Seuil (Ref COVCC1). Le Calibrateur Seuil doit avoir une valeur moyenne corrigée de la D.O supérieure à 0,06, et inférieure à 0,12. Divisez tous les puits de contrôle et d'échantillons par la valeur moyenne obtenue. Les spécifications du contrôle positif sont comprises entre 1,5 et 3,5 unités EIA. La spécification du contrôle négatif est inférieure à 1,25 unités EIA.

| Réactif | Spécification CQ |
|----------------------------|--------------------------------|
| Calibrateur Seuil (COVCC1) | D.O corrigée entre 0.06 – 0.12 |
| Contrôle Positif (COVPC1) | Unités EIA entre 1.5 -3.5 |
| Contrôle Négative (COVNC1) | < 1.25 unités EIA |

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Calculer les unités EIA en divisant la valeur d'absorbance de chaque puits d'échantillon par la valeur d'absorbance moyenne des puits du Calibrateur Seuil.

La DO corrigée est utilisée pour l'interprétation. En général, le logiciel de lecture de plaque effectue ce simple calcul en soustrayant pour chaque échantillon la DO de la référence 620/630 nm de la DO à 450 nm. Cette DO corrigée peut être appelée "DO brute" en fonction de la configuration du logiciel de lecture de plaques.

Pour le calcul manuel de la DO corrigée, utilisez l'équation ci-dessous :

DO corrigée Echantillon 1 = DO (450nm) Echantillon 1 – DO (620/630nm) Echantillon 1

Exemple:

DO corrigée = 0,112_(450 échantillon 1) – 0,043_(620 échantillon 1)
DO corrigée = 0,069

$$\text{Unités EIA} = \frac{\text{DO Corrigée de l'Echantillon}}{\text{DO Corrigée du Calibrateur Seuil}}$$

| Unités EIA | Interprétation |
|------------|----------------|
| x < 1.25 | Négatif |
| x ≥ 1.25 | Positif |

Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'anticorps. L'échantillon peut être prélevé avant que des anticorps détectables ne soient présents.

LIMITES DE LA PROCÉDURE

Les personnes immunodéprimées et les patients qui suivent des traitements immunosuppresseurs peuvent ne pas développer de réponse immunitaire détectable au virus SRAS-CoV-2.

Après l'infection, on ignore combien de temps la réponse des anticorps peut persister.

Les performances du test n'ont pas été établies pour les échantillons autres que le sérum.

Des tests de conception similaire n'ont pas montré de réactivité croisée avec d'autres coronavirus.⁵

ANALYSE DES RÉACTIONS CROISÉES

La réactivité croisée du test Clarus SARS-CoV-2 Total Antibody EIA a été évaluée sur plusieurs facteurs potentiels de réactivité croisée (voir tableau ci-dessous). Les échantillons à réactivité croisée potentielle suivants n'étaient pas disponibles et n'ont donc pas été testés : HBV, *Haemophilus influenzae*, coronavirus 229E et coronavirus HKU1.

Résultats de réactivité croisée:

| Pathologie | # d'échantillons | % Positifs |
|---------------|------------------|------------|
| HCV | 7 | 0% (0/7) |
| RSV | 1 | 0% (0/1) |
| CMV | 10 | 0% (0/10) |
| Flu A/B | 10 | 0% (0/10) |
| Corona – OC43 | 1 | 0% (0/1) |
| Corona – NL63 | 1 | 0% (0/1) |
| HIV | 14 | 0% (0/14) |

EVALUATION D'AGRÈMENT CLINIQUE

Le but de cette étude était d'établir la performance du test Clarus SARS-CoV-2 Total Antibody EIA en évaluant l'agrément clinique à l'aide d'échantillons humains provenant de patients présentant une infection COVID-19 confirmée microbiologiquement (qPCR+).

Un total de 351 sérums (53 positifs/ 298 négatifs) ont été évalués. Les échantillons positifs par PCR ont été recueillis du 31 mars 2020 au 10 avril 2020. Les échantillons présumés négatifs ont été collectés avant décembre 2019. La préparation des échantillons et les procédures de test ont été effectuées sur la base de la notice d'utilisation du test Clarus SARS-CoV-2 Total Antibody EIA. Les résultats de cette évaluation sont présentés dans les tableaux ci-dessous :

| IMMY COV105 Ab EIA | Résultats PCR | |
|--------------------|---------------|-----------------|
| | Positif | Présumé Négatif |
| Positif | 66 | 0 |
| Négatif | 6 | 296 |

*Le tableau 2X2 ci-dessus exclut les échantillons de patients qui ont été prélevés moins de 8 jours après l'apparition des symptômes, et les patients sous traitement immunosuppresseur (lorsqu'il est connu).

La sensibilité et la spécificité étaient respectivement de 92% (IC 95% : 83, 97) et 100% (IC 95% : 99, 100).

La valeur prédictive positive (PPV) et la valeur prédictive négative (NPV) étaient respectivement de 100 % (IC 95 % : 95, 100) et 98 % (IC 95 % : 96, 99).

Note: Au moment de cette révision (11 mai 2020), IMMY n'avait pas accès aux antécédents du patient pour certains des échantillons PCR+, tels que la date du résultat de la PCR+, le statut immunitaire (sous immunosuppresseurs) ou la date d'apparition

des symptômes. Par conséquent, les résultats faux négatifs ne peuvent pas être entièrement résolus.

SPECIFICITÉ DE CLASSE

Toutes les classes d'anticorps sont détectées par ce test.

RISQUES ET INFORMATIONS DE PRÉCAUTION

Consulter les fiches de données de sécurité (FDS) des produits pour connaître les dangers et les conseils de précaution.

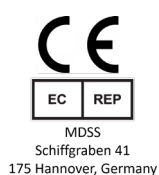
NOTES POUR UN USAGE CLINIQUE AUX ÉTATS-UNIS

Les laboratoires et les prestataires de soins de santé doivent inclure ces informations dans leur rapport d'essai sur les patients, comme le précise le guide de la FDA (Food and Drug Administration) :

1. Ce test n'a pas été examiné par la FDA.
2. Des résultats négatifs n'excluent pas une infection par le CoV-2 du SRAS, en particulier chez les personnes qui ont été en contact avec le virus. Un test de suivi avec un diagnostic moléculaire doit être envisagé pour exclure l'infection chez ces personnes.
3. Les résultats des tests d'anticorps ne doivent pas être utilisés comme seule base pour diagnostiquer ou exclure une infection par le CoV-2 du SRAS ou pour informer sur le statut de l'infection.
4. Les résultats positifs peuvent être dus à une infection passée ou présente par des souches de coronavirus non-SARS-CoV-2, telles que les coronavirus HKU1, NL63, OC43 ou 229E.
5. Ne pas utiliser le test pour le dépistage des dons de sang.

BIBLIOGRAPHIE

1. Zhou P., Yang X.-L., Wang, X.-G., Hu, B., Zhang, L., et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020;579:270-275.
2. Zhu N., Zhang D., Wang W., Li X., et al. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China. *N Engl J Med*. 2020;328(8):727-733
3. Cheng VC., Lau SK, Woo PC (Positive Control), Uen KY. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus as an Agent of Emerging and Reemerging Infection. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(4):660-694.
4. Zhao J., Yuan Q., Wang H., Liu W., Liao X., et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis*. 2020; ciaa344, <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa344>.
5. Lassauniere R., Frische A., Harboe Z.B., Neilsen A.C.Y., Fomsgaard A., Krogfelt K.A., Jorgensen C.S. Evaluation of nine commercial SARS-CoV-2 Immunoassays. MedRxiv 2020. 2020.04.09.20056325 <https://doi.org/10.1101/2020.04.09.20056325>



MDS
Schiffgraben 41
175 Hannover, Germany



IMMY, Inc.
2701 Corporate Centre Dr.
Norman OK 73069 U.S.A.
(405) 360-4669 / (800) 654-3639
Fax: (405) 364-1058
Email: infor@immy.com
www.immy.com

SYMBOLES INTERNATIONAUX

| | |
|--|--------------------------------|
| | Conservation 2-8 °C |
| | Fabricant |
| | Date de péremption |
| | Protéger de l'humidité |
| | Numéro de lot |
| | Référence commerciale |
| | Pour usage Diagnostic In Vitro |
| | Suffisant pour "#" Tests |
| | Protéger de la lumière directe |

ASSISTANCE D'EMBARQUEMENT

Pour vous aider à utiliser le "Clarus SARS-CoV-2 Total Antibody EIA," demandez le guide d'embarquement d'IMMY par e-mail techsupport@immy.com