

**Test Rapide d'Orientation Diagnostique (TROD)
(sang total/sérum/plasma) – Casette**

Réf. : TR-COV-002

INDICATION D'UTILISATION

COVID-PRESTO®, TROD IgG/IgM (sang total/sérum/plasma) – Casette, est un test immunochromatographique en phase solide pour la détection rapide, qualitative et différentielle des anticorps IgG et IgM dirigés contre le nouveau Coronavirus 2019 dans le sang total, le sérum ou le plasma humain. Ce test permet la détermination d'une immunisation au SARS-CoV-2 qui permet d'affirmer, même en l'absence de symptômes, le contact avec le virus et une immunité acquise à priori protectrice.

INTRODUCTION

Les coronavirus sont des virus à ARN enveloppés qui sont largement répandus chez les humains, les autres mammifères et les oiseaux et qui provoquent des maladies respiratoires, entériques, hépatiques et neurologiques. Sept espèces de coronavirus sont connues pour provoquer des maladies chez l'homme. Quatre virus - 229E, OC43, NL63 et HKU1 - sont répandus et provoquent généralement les symptômes du rhume chez les personnes immunocompétentes. Les trois autres souches - le coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère (SRAS-CoV), le coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV) et le nouveau coronavirus (SARS-CoV-2) - sont d'origine zoonotique et ont été associées à des maladies parfois mortelles. Les anticorps IgG et IgM du nouveau coronavirus peuvent être détectés 1 à 3 semaines après le début des symptômes.

PRINCIPE DU TEST

COVID-PRESTO® est un test immunochromatographique à flux latéral. Le test utilise des anticorps anti IgM humaines (ligne test IgM), des anticorps anti IgG humaines (ligne test IgG) et des IgG de lapin (ligne contrôle (C)) immobilisés sur une bandelette de nitrocellulose. Le Conjugué (antigènes recombinants de COVID-19 marqué à l'or colloïdal) est également intégré à la bandelette.

Lorsque l'échantillon sanguin est ajouté dans le puits échantillon (S) puis le tampon dans le puits tampon (B), les anticorps IgM et/ou IgG, s'ils sont présents, se lient aux conjugués COVID-19, formant des complexes anticorps-antigènes.

Ces complexes migrent à travers la membrane de nitrocellulose par capillarité. Lorsque les complexes rencontrent la ligne de l'anticorps immobilisé correspondant (anticorps anti IgM humaines et/ou anticorps anti IgG humaines), les complexes sont piégés et forment une bande de couleur bordeaux qui confirme la réactivité du test. L'absence de bande colorée dans la région test indique un résultat négatif.

Pour servir de contrôle de procédure, la ligne colorée de la région contrôle passera toujours du bleu au rouge, indiquant qu'un volume d'échantillon suffisant a été utilisé et que la migration sur la membrane a été effectuée.

MATERIEL FOURNI

- 25 sachets scellés contenant chacun une cassette test et un absorbeur d'humidité
- 2 flacons de tampon
- 25 lancettes
- 25 micropipettes de 10µL
- 1 notice d'utilisation

MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Récipients de collecte des échantillons
- Centrifugeuse (pour le plasma uniquement)
- Pipettes de laboratoire
- Gants
- Minuteur

CONSERVATION ET STABILITE

Le kit peut être conservé à température ambiante ou réfrigérée (2-30°C). Le test est stable jusqu'à la date de péremption imprimée sur le sachet scellé. La cassette doit rester dans son sachet scellé jusqu'à utilisation. NE PAS CONGELER. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption.

MISES EN GARDE ET PRÉCAUTIONS

- Pour un usage professionnel de diagnostic in vitro uniquement. Ne pas utiliser après la date de péremption.
- Lire attentivement toute la procédure avant de réaliser le test. Le non-respect de la procédure peut entraîner des résultats incorrects.
- Ne pas utiliser si le sachet scellé est endommagé ou si le tube de tampon est cassé.
- La cassette test est à usage unique. Ne réutiliser en aucun cas.
- Manipuler tous les échantillons comme s'ils contenaient des agents infectieux. Respecter les consignes de sécurité en matière de risques microbiologiques et suivre les procédures en vigueur pour l'élimination appropriée des échantillons.
- Porter des vêtements de protection tels que des blouses de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection pendant les procédures.
- L'humidité et la température peuvent affecter les résultats.
- Ne pas effectuer le test dans une pièce à forte circulation d'air, par exemple un ventilateur ou une climatisation puissante.

COLLECTE DES ECHANTILLONS DE SERUM OU PLASMA

COVID-PRESTO® peut être réalisé à partir de sang total, de sérum ou de plasma.

Si sérum ou plasma :

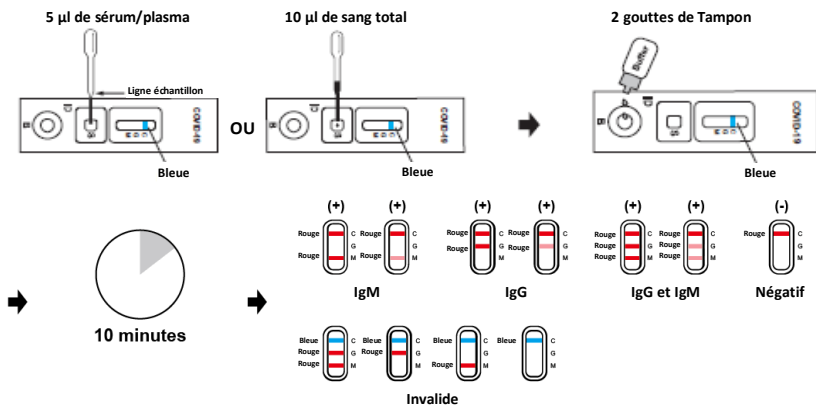
1. Séparer le sérum ou le plasma du sang dès que possible pour éviter l'hémolyse. N'utiliser que des échantillons clairs et non hémolysés.
2. Effectuer le test immédiatement après le prélèvement de l'échantillon. Ne pas laisser les échantillons à température ambiante pendant de longues périodes. Les échantillons de sérum et de plasma peuvent être conservés à une température comprise entre 2 et 8°C pendant 3 jours maximum. Pour une conservation au long terme, les échantillons doivent être conservés à une température inférieure à -20°C. Le sang total prélevé par ponction veineuse doit être conservé à 2-8°C si le test doit être effectué dans les 2 jours suivant le prélèvement. Ne pas congeler les échantillons de sang total. Le sang total prélevé au bout du doigt doit être testé immédiatement.
3. Laisser les échantillons atteindre la température de la pièce avant de les tester. Les échantillons congelés doivent être complètement décongelés et bien mélangés avant de réaliser le test. Les échantillons ne doivent pas être congelés et décongelés à plusieurs reprises.
4. Si des échantillons doivent être expédiés, ils doivent être emballés conformément aux réglementations locales concernant le transport des agents infectieux.

REALISATION DU TEST

Attendre que l'échantillon et les composants soient à température ambiante (15-30°C) avant de réaliser le test.

Retirer la cassette test du sachet scellé. Effectuer le test dans l'heure suivant l'ouverture du sachet.

1. Placer la cassette test sur une surface plane et propre.
2. Réaliser le test comme suit, en fonction du type d'échantillon :
 - Pour **les échantillons de sang total prélevés au bout du doigt (utilisation de la micropipette de 10µL)** :
 - o A l'aide de la lancette, piquer sur le côté du bout du doigt. Former une grosse goutte de sang suspendue.
 - o **Tenir la micropipette à l'horizontale** et mettre l'extrémité de celle-ci en contact avec le sang. **NE PAS PRESSER LA POIRE DE LA PIPETTE.** La pipette se remplit automatiquement jusqu'au trait noir.
 - o Placer la micropipette verticalement au-dessus du puits (S) de la cassette et presser la poire pour déposer le sang.
 - Remarque : si le sang n'est pas expulsé de la micropipette, boucher le petit trou situé au milieu du trait noir avec les doigts de l'autre main puis presser la poire.*
 - o Ajouter immédiatement 2 gouttes de tampon dans le puits (B) de la cassette. Eviter les bulles d'air
 - Pour **les échantillons de sang total veineux** : prélever **10µl** d'échantillon de sang à l'aide d'une pipette de laboratoire puis les déposer dans le puits (S) de la cassette. Ajouter immédiatement 2 gouttes de tampon dans le puits (B) de la cassette. Eviter les bulles d'air.
 - Pour **les échantillons de sérum ou de plasma** : prélever **5µl** d'échantillon de sérum/plasma à l'aide d'une pipette de laboratoire puis les déposer dans le puits (S) de la cassette. Ajouter immédiatement 2 gouttes de tampon dans le puits (B) de la cassette. Eviter les bulles d'air.
3. Attendre que la ou les bande(s) coloré(es) apparaisse(nt). Après 2 minutes, si la couleur rouge n'a pas traversé la fenêtre de test, ajouter 1 goutte supplémentaire de tampon dans le puits (B). Lire les résultats à 10 minutes. Des résultats positifs peuvent être visibles dès 2 minutes. Ne pas interpréter le résultat après 15 minutes.



INTERPRETATION DES RESULTATS

Négatif : la ligne colorée dans la région de la ligne contrôle (C) passe du bleu au rouge. Aucune ligne n'apparaît dans les régions des lignes test M ou G. Le résultat est négatif.

IgM positif : la ligne colorée dans la région de la ligne contrôle (C) passe du bleu au rouge et une ligne colorée apparaît dans la région de la ligne test M. Le résultat est positif pour les IgM anti-COVID-19.

IgG positif : la ligne colorée dans la région de la ligne contrôle (C) passe du bleu au rouge, et une ligne colorée apparaît dans la région de la ligne test G. Le résultat est positif pour les IgG anti-COVID-19.

IgG et IgM positifs : la ligne colorée dans la région de la ligne contrôle (C) passe du bleu au rouge, et deux lignes colorées apparaissent dans les régions de la ligne de test M et G. Le résultat est positif pour les IgM et IgG anti-COVID-19.

Invalide : la ligne contrôle est toujours bleue (même partiellement) et ne passe pas complètement du bleu au rouge. Un volume d'échantillon insuffisant ou une exécution incorrecte de la procédure sont les raisons les plus probables de l'échec de la ligne contrôle. Revoir la procédure et répéter le test avec une nouvelle cassette test. Si le problème persiste, cesser d'utiliser le kit et contacter votre distributeur local.

CONTROLE QUALITE

Un contrôle qualité interne est inclus dans le test. Une ligne rouge apparaissant dans la région contrôle (C) est le contrôle de procédure interne. Elle confirme qu'un volume d'échantillon suffisant a été utilisé et que la procédure de test a été correctement suivie.

Les contrôles qualité externes ne sont pas fournis dans ce kit ; cependant, il est recommandé de tester des contrôles positifs et négatifs comme bonne pratique de laboratoire pour confirmer la procédure et vérifier les performances du test.

LIMITES

- Utiliser des échantillons frais chaque fois que possible. Les échantillons congelés et décongelés (surtout de manière répétée) contiennent des particules qui peuvent bloquer la membrane. Cela ralentit le flux des réactifs et peut entraîner une coloration de la membrane, rendant l'interprétation des résultats difficile.
- Une performance optimale du test exige une stricte application de la procédure de test décrite dans cette notice d'utilisation. Des écarts peuvent conduire à des résultats aberrants.
- Ce test n'est pas destiné à être utilisé dans un but de diagnostic de l'infection COVID-19, mais pour le diagnostic de l'immunisation acquise contre le virus du COVID-19.
- Un résultat négatif indique l'absence d'anticorps anti-COVID-19 détectables. Toutefois, un résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une exposition ou d'une infection par COVID-19.
- Un résultat négatif peut survenir si les anticorps détectés ne sont pas présents au stade de la maladie pendant lequel l'échantillon est prélevé ou si leur taux est inférieur à la limite de détection du test.
- Une concentration anormalement élevée d'anticorps hétérophiles ou de facteur rhumatoïde peut affecter les résultats du test.
- Certaines données préliminaires semblent indiquer que ces anticorps peuvent apparaître tardivement (J30), notamment en cas d'infection pauci/asymptomatique.
- COVID-PRESTO® est un TROD ; le diagnostic définitif de l'immunisation doit être effectué dans un laboratoire d'analyses médicales.

PERFORMANCES

Les performances du test COVID-PRESTO® ont été évaluées au CHR d'Orléans (Service des maladies infectieuses – publication des résultats en cours) à partir de :

- Sensibilité : 148 échantillons de sang capillaire obtenus de 134 patients ayant eu une PCR COVID-19 positive en raison de symptômes évocateurs (fièvre et/ou toux et/ou dyspnée et/ou syndrome pseudo-grippal)
- Spécificité : 72 patients ayant eu une PCR COVID-19 négative prélevés en raison de symptômes ayant conduit à la réalisation de la PCR qui s'est révélée négative sans signe de gravité

Sensibilité

| Méthode de référence | PCR COVID-19 positive | | | |
|---|-----------------------|---------------|----------------|----------------|
| Tranche de délais après 1er symptôme (nombre de patients) | J2-J6 (n=24) | J7-J10 (n=39) | J11-J15 (n=39) | J16-J31 (n=46) |
| Nombre d'échantillons négatifs | 20 | 16 | 12 | 0 |
| Nombre d'échantillons IgM positifs seuls | 2 | 8 | 3 | 1 |
| Nombre d'échantillons IgM et IgG positifs | 2 | 10 | 24 | 40 |
| Nombre d'échantillons IgG positifs seuls | 0 | 5 | 0 | 5 |
| Résultats | 16.7% | 58.9% | 69.2% | 100% |

Spécificité

| Méthode de référence | PCR COVID-19 négative |
|-----------------------|-----------------------|
| Nombre d'échantillons | 72 |
| Résultats | 100% |

Interférences

Les substances listées ci-après ont été testées : facteurs rhumatoïdes (80IU/ml), anticorps antinucléaire (1:160), anticorps anti-mitochondriaux (1:20), anticorps humain anti-souris (HAMA) (2464ng/ml), acide ascorbique (20mg/dL), hémoglobine (1000mg/L), bilirubine (10mg/dL), sérum albumine humaine (2000mg/dL), triglycérides (500mg/dL). Les résultats n'ont montré aucune interférence aux concentrations indiquées.

Précision

Intra-lot : 3 échantillons (un négatif, un positif IgG et un positif IgM) ont été testés 10 fois chacun. Les résultats ont tous été corrects.

Inter-lot : 3 échantillons (un négatif, un positif IgG et un positif IgM) ont été testés 10 fois sur 3 lots. Les résultats ont tous été corrects.

Réactions croisées

Des échantillons contenant des anticorps contre les agents pathogènes listés ci-après ont été testés : Influenza A virus, Influenza B virus, Respiratory syncytial virus, Adenovirus, Rhinovirus, Human metapneumovirus, Mycoplasma pneumoniae, Chlamydia pneumoniae, Bacterial pneumonia, Endemic coronavirus HKU1, Endemic coronavirus OC43, Endemic coronavirus NL63, Endemic coronavirus 229E. Les résultats n'ont montré aucune réaction croisée.

REFERENCES

- Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. Adv Virus Res 2011; 81: 85-164.
- Masters PS, Perlman S. Coronaviridae. In: Knipe DM, Howley PM, eds. Fields virology. 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2013: 825-58.
- Su S, Wong G, Shi W, et al. Epidemiology, genetic recombination, and pathogenesis of coronaviruses. Trends Microbiol 2016; 24: 490-502.
- Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat Rev Microbiol 2019; 17: 181-192.

LEGENDE DES SYMBOLES

| | | | | | |
|--|---|--|-------------------------|--|-------------------|
| | Lire la notice d'utilisation | | Nombre de tests par kit | | Fabricant |
| | Pour usage de diagnostic <i>in vitro</i> uniquement | | Date de péremption | | Ne pas réutiliser |
| | A conserver entre 2 et 30°C | | Numéro de lot | | Référence |
| | Marquage CE | | | | |



43 rue de Bellevue
92100 Boulogne-Billancourt France
contact@aazlab.fr