

Avril 2022

# Mode d'emploi du QuantiFERON<sup>®</sup> SARS-CoV-2 ELISA Kit



Version 1



Pour utilisation diagnostique in vitro

À utiliser avec les QuantiFERON<sup>®</sup> SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes



626420



QIAGEN, 19300 Germantown Road, Germantown, MD 20874, États-Unis  
Téléphone : +1-800-426-8157



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724  
Hilden, Allemagne



1124420FR



# Table des matières

Utilisation prévue.....	5
Utilisateurs prévus.....	6
Description et principe.....	7
Résumé et explications.....	7
Matériel fourni.....	9
Contenu du kit.....	9
Composants du kit.....	10
Plate-forme et logiciel.....	10
Matériel nécessaire, mais non fourni.....	11
Réactifs supplémentaires.....	11
Équipement.....	11
Avertissements et précautions.....	12
Informations de sécurité.....	12
Précautions.....	13
Stockage et manipulation des réactifs.....	16
Stabilité à l'utilisation.....	16
Réactifs reconstitués et inutilisés.....	16
Conservation et manipulation des échantillons.....	17
Procédure : test ELISA.....	18
Protocole : test ELISA de l'IFN- $\gamma$ .....	18
Résultats (Calculs).....	24
Génération d'une courbe étalon et de valeurs d'échantillons.....	24

---

Contrôle qualité du test .....	26
Interprétation des résultats.....	28
Limitations.....	29
Caractéristiques de performances du dosage.....	30
Performances analytiques .....	30
Performances cliniques .....	39
Références .....	46
Guide de dépannage.....	51
Symboles.....	54
Coordonnées .....	55
Annexe A : informations techniques .....	56
Résultats indéterminés .....	56
Échantillons de plasma coagulés .....	56
Présence de graisse dans les échantillons de plasma .....	56
Annexe B : résumé de la procédure du test ELISA .....	57
Informations pour commander .....	59
Historique des révisions du document.....	60

---

# Utilisation prévue

Le dosage QuantiFERON SARS-CoV-2 est un test de diagnostic in vitro conçu pour la détection qualitative de l'interféron- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) produit par les lymphocytes T CD4+ et CD8+ en réponse à la stimulation par un mélange de peptides du SARS-CoV-2 dans le sang total hépariné. La quantité d'IFN- $\gamma$  produite est mesurée à l'aide du dosage par méthode immuno-enzymatique ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay, ELISA).

Le dosage QuantiFERON SARS-CoV-2 est conçu pour faciliter l'évaluation de la réponse immunitaire à médiation cellulaire (IMC) chez les patients qui ont été infectés par le SARS-CoV-2 et qui ont bénéficié de la vaccination contre la COVID-19 avec des vaccins ciblant la protéine S virale du virus SARS-CoV-2.

Le dosage QuantiFERON SARS-CoV-2 doit être utilisé avec d'autres tests de laboratoire et une évaluation épidémiologique/clinique afin d'évaluer la réponse immunitaire d'une personne suite à la vaccination contre la COVID-19.

Il peut falloir plusieurs jours après la vaccination pour développer une réponse immunitaire à lymphocytes T, bien que la durée de cette réponse ne soit pas bien caractérisée chez les personnes vaccinées.

Des résultats non réactifs n'excluent pas une infection active au SARS-CoV-2 et ne déterminent en rien l'efficacité des vaccins contre la COVID-19. Si une infection active est suspectée, confirmer en utilisant un autre test moléculaire ou antigénique pour le SARS-CoV-2. Les résultats du dosage doivent toujours être utilisés en complément de l'examen clinique, des antécédents médicaux du patient et d'autres résultats.

Pour utilisation diagnostique in vitro.

---

# Utilisateurs prévus

Ce kit est réservé à un usage professionnel.

Le produit est destiné à être utilisé uniquement par le personnel ayant reçu les instructions et la formation spécialement liées aux techniques de biologie moléculaire et étant familiarisé avec cette technologie.

---

# Description et principe

## Résumé et explications

Le QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) est un dosage qualitatif qui utilise des tubes de prélèvement sanguin spécifiques, ceux-ci contiennent des antigènes peptidiques qui stimulent les cellules immunitaires avec des protéines spécifiques au SARS-CoV-2. L'incubation du sang est réalisée dans les tubes pendant 16 à 24 heures avant la collecte du plasma et la recherche d'IFN- $\gamma$  produit en réponse aux antigènes peptidiques. Des réponses spécifiques à médiation cellulaire des lymphocytes T à une infection au SARS-CoV-2 ont été rapportées après une vaccination avec différents types de vaccins ciblant la protéine S [1–34].

Dans un premier temps, le sang total est prélevé dans chacun des QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes, qui comprennent un tube Nil, un tube Ag1, un tube Ag2 et un tube Mitogen. Le sang peut aussi être collecté dans un même tube de prélèvement sanguin contenant de l'héparine de lithium ou de l'héparine sodique comme anticoagulant, avant d'être transféré dans les QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes.

Les QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes sont agités pour mélanger les antigènes avec le sang et incubés à  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  dès que possible, dans les 16 heures suivant le prélèvement. Après une période d'incubation de 16 à 24 heures, les tubes sont centrifugés, le plasma est traité et la quantité d'IFN- $\gamma$  (UI/ml) est mesurée par ELISA. Le QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA utilise un étalon d'IFN- $\gamma$  humain recombinant, qui est dosé par rapport à une préparation d'IFN- $\gamma$  de référence (réf. NIH : Gxg01-902-535). Les résultats des échantillons de test sont exprimés en unités internationales par ml (UI/ml) par rapport à une courbe étalon établie en testant des dilutions de l'étalon fourni dans le kit.

---

Il est reconnu que la présence d'anticorps hétérophiles (p. ex. des anticorps humains antisouris) dans le sérum ou le plasma de certains individus peut interférer avec les dosages immuno-enzymatiques. L'effet des anticorps hétérophiles sur le QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA est réduit au minimum par l'ajout de sérum normal de souris au diluant vert et par l'utilisation de fragments F(ab')<sub>2</sub> d'anticorps monoclonaux comme anticorps de capture anti-IFN- $\gamma$  adsorbés dans les puits de la microplaque.

L'échantillon de plasma du tube Mitogen sert de contrôle positif de la réponse d'IFN- $\gamma$  pour chaque prélèvement testé. Le tube Nil compense le bruit de fond (p. ex. teneurs excessives en IFN- $\gamma$  circulant ou présence d'anticorps hétérophiles). La teneur en IFN- $\gamma$  du tube Nil est soustraite de la teneur en IFN- $\gamma$  des tubes Ag1, Ag2 et Mitogen.

# Matériel fourni

## Contenu du kit

<b>Composants ELISA</b>	<b>Kit de 2 plaques</b>
N° de référence	626420
Microplate Strips (Barrettes de microplaques) (12 × 8 puits) enduites d'anticorps monoclonaux murins anti-IFN- $\gamma$ humain	2 jeux de 12 barrettes de microplaques à 8 puits
IFN- $\gamma$ Standard (Étalon d'IFN- $\gamma$ ), lyophilisé (contient de l'IFN- $\gamma$ humain recombinant, de la caséine bovine, du thiomersal à 0,01 % m/v)	1 flacon (8 UI/ml après reconstitution)
Green Diluent (Diluant vert) (contient de la caséine bovine, du sérum normal de souris, du thiomersal à 0,01 % m/v)	1 × 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Concentré de conjugué 100x), lyophilisé (anticorps murins anti-IFN- $\gamma$ humain conjugués à la peroxydase de raifort ; contient du thiomersal à 0,01 %)	1 × 0,3 ml (après reconstitution)
Wash Buffer 20x Concentrate (Concentré de tampon de lavage 20x) (pH 7,2 ; contient du ProClin® 300 à 0,05 % v/v)	1 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Solution de substrat enzymatique) (contient H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> et 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine)	1 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Solution de blocage d'enzyme) (contient H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,5 M)*	1 × 15 ml
<i>Mode d'emploi du QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA Kit</i>	1

\* Contient de l'acide sulfurique

---

## Composants du kit

### Contrôles et étalons

Le QFN SARS ELISA utilise un étalon d'IFN- $\gamma$  humain recombinant dosé par rapport à une préparation d'IFN- $\gamma$  de référence (réf. NIH : Gxg01-902-535).

### Plate-forme et logiciel

Le logiciel d'analyse QFN SARS est facultatif et peut être utilisé pour analyser les données brutes et calculer les résultats. Il peut être téléchargé à l'adresse suivante [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Matériel nécessaire, mais non fourni

## Réactifs supplémentaires

- Eau déionisée ou distillée, 2 litres

## Équipement\*

- Incubateur à  $37 \pm 1$  °C (avec ou sans CO<sub>2</sub>)
- Pipettes à volume variable calibrées de 10 µl à 1 000 µl avec embouts jetables
- Pipettes multicanal calibrées pouvant distribuer des volumes de 50 µl et 100 µl avec embouts jetables
- Agitateur de microplaque pouvant atteindre des vitesses de 500 à 1 000 tr/min
- Laveur de microplaques (pour la manipulation sûre des échantillons de plasma, il est recommandé d'utiliser un laveur de microplaques automatique)
- Lecteur de microplaques avec filtre de 450 nm et filtre de référence de 620 nm à 650 nm
- Agitateur à vitesse variable
- Centrifugeuse capable de centrifuger les tubes de prélèvement sanguin à au moins 3 000 FCR (g)
- Éprouvette graduée, 1 litre ou 2 litres
- Couvercle de microplaque
- Serviette absorbante à faible peluchage

\* Avant utilisation, s'assurer que les instruments ont été vérifiés et calibrés conformément aux recommandations du fabricant.

---

# Avertissements et précautions

Pour les clients dans l'Union européenne, noter qu'il peut être nécessaire de rapporter tout incident grave survenant en lien avec le produit au fabricant et à l'autorité compétente du pays membre de l'utilisateur et/ou du patient.

## Informations de sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques, porter systématiquement une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Celles-ci sont disponibles en ligne dans un format PDF pratique et compact sur le site [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) répertoriant les FDS imprimables pour chaque kit QIAGEN et chaque composant.

- Tous les produits chimiques et biologiques sont potentiellement dangereux. Les prélèvements et échantillons sont potentiellement infectieux et doivent être traités comme du matériel présentant un risque biologique.
- Jeter les échantillons et les dosages usagés conformément aux procédures de sécurité locales.
- Les prélèvements et les échantillons sont potentiellement infectieux. Jeter les échantillons et les dosages usagés conformément aux procédures de sécurité locales.
- Le dosage QFN SARS doit être utilisé avec d'autres tests de laboratoire et une évaluation épidémiologique/clinique afin d'évaluer la réponse immunitaire d'une personne suite à une vaccination contre la COVID-19.
- Un résultat QFN SARS non réactif n'exclut pas une infection éventuelle au SARS-CoV-2 et ne détermine en rien l'efficacité des vaccins contre la COVID-19. Des résultats faussement non réactifs peuvent être dus à une mauvaise manipulation des tubes de prélèvement sanguin après la ponction veineuse, à une mauvaise réalisation du dosage ou à d'autres variables immunologiques, notamment liées à des comorbidités. Les anticorps hétérophiles ou la production d'IFN- $\gamma$  non spécifique induite par d'autres affections inflammatoires peuvent masquer les réponses spécifiques aux peptides du SARS-CoV-2.

- Un résultat QFN SARS réactif ne doit pas constituer la base unique ou irréfutable de la détermination de l'efficacité du vaccin contre la COVID-19. Une mauvaise exécution du dosage peut entraîner des résultats QFN SARS faussement réactifs.
- Un résultat QFN SARS faussement réactif peut être dû à un prélèvement incorrect des échantillons de sang ou à une manipulation incorrecte de l'échantillon qui a une incidence sur la fonction des lymphocytes. Se reporter à la section « Procédure : test ELISA », page 18, pour connaître la manipulation correcte des échantillons de sang. Une incubation retardée peut donner des résultats faussement non réactifs ou indéterminés, et d'autres paramètres techniques peuvent affecter la capacité à détecter une réponse IFN- $\gamma$  significative.
- Une faible réponse au Mitogen (< 0,5 UI/ml) indique un résultat indéterminé lorsqu'un échantillon sanguin présente aussi une réponse non réactive aux protéines du SARS CoV-2. Cela peut survenir dans le cas d'un nombre insuffisant de lymphocytes, d'une activité lymphocytaire réduite en raison d'une mauvaise manipulation de l'échantillon, du remplissage/mélange du tube Mitogen ou de l'incapacité des lymphocytes du patient à générer de l'IFN- $\gamma$ . L'échantillon Nil peut présenter des teneurs élevées en IFN- $\gamma$  en présence d'anticorps hétérophiles ou d'une sécrétion intrinsèque d'IFN- $\gamma$ .

## Précautions

<p><b>ATTENTION</b></p> 	<p>Manipuler le sang humain comme s'il était potentiellement infectieux.</p> <p>Observer les directives correspondantes de manipulation du sang. Jeter les échantillons et le matériel en contact avec le sang ou les produits sanguins conformément aux réglementations nationales, régionales et locales en vigueur.</p>
---	--

### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Contient de l'acide sulfurique. Avertissement ! Peut être corrosif pour les métaux. Provoque une irritation cutanée. Provoque une sévère irritation des yeux. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Avertissement ! Provoque une légère irritation cutanée. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

### QuantiFERON Green Diluent



Contient de la tartrazine. Avertissement ! Peut provoquer une allergie cutanée. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Éviter tout rejet dans l'environnement.

## Autres informations

Fiches de données de sécurité (FDS) : [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- Le thiomersal est utilisé comme conservateur dans certains réactifs QFN SARS. Il peut être toxique après ingestion, inhalation ou contact cutané.
- Tout écart par rapport au *mode d'emploi du QuantiFERON ELISA Kit* peut entraîner des résultats erronés. Lire attentivement les instructions avant toute utilisation.
- Ne pas utiliser le kit si un flacon de réactif présente des signes d'endommagement ou de fuite avant son utilisation.
- Important : examiner les flacons avant de les utiliser. Ne pas utiliser les flacons de conjugué ou d'étalon d'IFN- $\gamma$  s'ils semblent endommagés ou si l'étanchéité du joint en caoutchouc a été altérée. Ne pas manipuler de flacons cassés. Prendre les précautions nécessaires pour les éliminer en toute sécurité. Il est recommandé d'utiliser une pince à dessertir pour ouvrir les flacons de conjugué ou d'étalon d'IFN- $\gamma$  afin de réduire les risques de blessures avec la capsule en métal.

- 
- Ne pas mélanger ni utiliser les barrettes de microplaques, l'étalon d'IFN- $\gamma$ , le diluant vert ou le conjugué concentré 100x provenant de différents lots de kit QFN SARS. Les autres réactifs (concentré de tampon de lavage 20x, solution de substrat enzymatique et solution de blocage d'enzyme) sont interchangeables entre les kits si les réactifs ne sont pas périmés et si les détails du lot sont enregistrés.
  - Éliminer les réactifs inutilisés et les échantillons biologiques conformément aux réglementations locales, régionales et nationales.
  - Ne pas utiliser le kit QFN SARS ELISA après la date d'expiration.
  - Des procédures de laboratoire correctes doivent être suivies en permanence.
  - S'assurer que l'équipement de laboratoire tel que les laveurs et lecteurs de microplaques ont été calibrés/validés pour utilisation.

# Stockage et manipulation des réactifs

Prêter attention aux dates de péremption et aux conditions de stockage imprimées sur l'emballage et les étiquettes des composants. Ne pas utiliser de composants périmés ou stockés dans de mauvaises conditions.

## Stabilité à l'utilisation

- Conserver le kit ELISA entre 2 et 8 °C.
- Veiller à toujours protéger la solution de substrat enzymatique de la lumière directe du soleil.

## Réactifs reconstitués et inutilisés

- Pour obtenir des instructions sur la reconstitution des réactifs, se reporter à « Procédure : test ELISA », page 18.
- L'étalon du kit reconstitué peut être conservé jusqu'à 3 mois s'il est conservé entre 2 et 8 °C.

Noter la date à laquelle l'étalon du kit a été reconstitué.

- Le concentré de conjugué 100x reconstitué doit être conservé entre 2 et 8 °C et utilisé dans les 3 mois.

Noter la date à laquelle le conjugué a été reconstitué.

- Le conjugué prêt à l'emploi doit être utilisé dans les 6 heures suivant sa préparation.
- Le tampon de lavage prêt à l'emploi peut être conservé à température ambiante jusqu'à 2 semaines.

---

# Conservation et manipulation des échantillons

Se reporter au *mode d'emploi des QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) Blood Collection Tubes* (1124422) pour plus de détails sur la procédure de prélèvement sanguin pour le test QFN SARS.

# Procédure : test ELISA

## Protocole : test ELISA de l'IFN- $\gamma$

### Points importants

- Se reporter aux sections Contenu du kit, page 9 et Matériel nécessaire, mais non fourni, page 11 pour connaître les produits nécessaires à la réalisation du test ELISA.

### Configuration (Temps requis pour effectuer le dosage)

Pour pouvoir obtenir des résultats valides au dosage QFN SARS, l'opérateur doit effectuer des tâches spécifiques dans le temps imparti. Avant d'utiliser le dosage, il est recommandé à l'opérateur de planifier soigneusement chaque étape afin de prévoir le temps nécessaire pour chacune d'elles. Le temps requis est estimé ci-dessous ; le temps requis pour tester plusieurs échantillons en lots est également indiqué.

- Environ 3 heures pour une plaque ELISA
- <1 heure de travail
- Ajouter 10 à 15 minutes pour chaque microplaque supplémentaire

### Procédure

1. L'ensemble des échantillons de plasma et des réactifs, sauf le conjugué concentré 100x, doit être amené à température ambiante ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) avant utilisation. Attendre au moins 60 minutes pour l'équilibration.
2. Retirer du cadre les barrettes ELISA superflues, les remettre dans la poche en aluminium fermée et les replacer au réfrigérateur pour les conserver jusqu'à utilisation.
3. Prévoir au moins 1 barrette pour les étalons QFN SARS et suffisamment de barrettes pour le nombre de sujets testés (voir la Figure 2 pour le format de plaque recommandé). Après utilisation, conserver le cadre et le couvercle pour une utilisation ultérieure avec les barrettes restantes.

- 3a. Reconstituer l'étalon d'IFN- $\gamma$  avec le volume d'eau déionisée ou distillée indiqué sur l'étiquette du flacon. Mélanger doucement pour réduire la formation de mousse et vous assurer que la totalité du contenu du flacon est bien dissoute. La reconstitution de l'étalon d'IFN- $\gamma$  au volume indiqué produit une solution à la concentration de 8,0 UI/ml.
- 3b. À l'aide de l'étalon reconstitué, préparer une série de dilution de 4 concentrations d'IFN- $\gamma$  (voir la Figure 1).
- 3c. Une courbe étalon doit être générée avec les concentrations d'IFN- $\gamma$  suivantes :
- S1 (étalon 1) contient 4,0 UI/ml
  - S2 (étalon 2) contient 1,0 UI/ml
  - S3 (étalon 3) contient 0,25 UI/ml
  - S4 (étalon 4) contient 0 UI/ml (Diluant vert [DV] seulement).
- 3d. Les étalons doivent être testés au moins en double.
- 3e. Préparer des dilutions fraîches de l'étalon du kit pour chaque session ELISA.

<b>Procédure</b>	
A	Étiqueter 4 tubes : S1, S2, S3, S4
B	Ajouter 150 $\mu$ l de DV à S1, S2, S3, S4
C	Ajouter 150 $\mu$ l de l'étalon du kit à S1 et mélanger soigneusement
D	Transférer 50 $\mu$ l de S1 à S2 et mélanger soigneusement
E	Transférer 50 $\mu$ l de S2 à S3 et mélanger soigneusement
F	Le DV seul sert d'étalon zéro (S4)

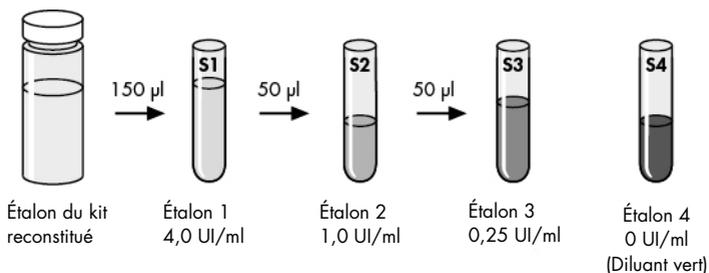


Figure 1. Préparation d'une série de dilution avec courbe étalon.

4. Reconstituer le conjugué concentré 100x lyophilisé avec 0,3 ml d'eau déionisée ou distillée. Mélanger doucement pour réduire la formation de mousse et vous assurer que la totalité du contenu du flacon est bien dissoute.
  - 4a. Le conjugué concentré prêt à l'emploi est préparé en diluant la quantité requise de concentré de conjugué 100x reconstitué dans le diluant vert (Tableau 1).
  - 4b. Le conjugué prêt à l'emploi doit être utilisé dans les 6 heures suivant sa préparation.
  - 4c. Ramener tout concentré de conjugué 100x non utilisé à une température comprise entre 2 et 8 °C immédiatement après utilisation.

**Tableau 1. Préparation du conjugué (prêt à l'emploi)**

Nombre de barrettes	Volume de conjugué (concentré 100x)	Volume de diluant vert
2	10 µl	1,0 ml
3	15 µl	1,5 ml
4	20 µl	2,0 ml
5	25 µl	2,5 ml
6	30 µl	3,0 ml
7	35 µl	3,5 ml
8	40 µl	4,0 ml
9	45 µl	4,5 ml
10	50 µl	5,0 ml
11	55 µl	5,5 ml
12	60 µl	6,0 ml

5. Pour les échantillons de plasma collectés dans les tubes de prélèvement sanguin puis conservés (réfrigérés ou congelés), bien mélanger l'échantillon conservé avant de l'ajouter au puits ELISA. Les échantillons de plasma peuvent être conservés dans des

QFN SARS Blood Collection Tubes centrifugés jusqu'à 28 jours à 2–8 °C ou les échantillons de plasma collectés peuvent être conservés jusqu'à 28 jours à 2–8 °C. Les échantillons de plasma collectés peuvent également être conservés à –20 °C (de préférence à une température inférieure à –70 °C) jusqu'à 24 mois.

Les échantillons de plasma peuvent être chargés/utilisés directement à partir des tubes de prélèvement sanguin centrifugés pour une mesure dans la plaque QFN SARS ELISA.

Important : si les échantillons de plasma sont transférés directement depuis les QFN SARS Blood Collection Tubes centrifugés, tout mélange du plasma doit être évité.

Pendant l'ensemble de la procédure, veiller à ne pas perturber la matière sur la surface du gel.

6. Ajouter 50 µl du conjugué prêt à l'emploi fraîchement préparé dans chaque puits de la plaque ELISA.
7. Ajouter 50 µl d'échantillon de plasma de test dans les puits appropriés (voir la configuration recommandée de plaque ELISA sur la Figure 2).
8. Ajouter enfin 50 µl de chacun des étalons 1 à 4 dans les puits appropriés de la plaque (voir la configuration recommandée de plaque ELISA sur la Figure 2). Les étalons doivent être testés au moins en double.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1 N	3 N	5 N	7 N	9 N	S1	S1	13 N	15 N	17 N	19 N	21 N
B	1 Ag1	3 Ag1	5 Ag1	7 Ag1	9 Ag1	S2	S2	13 Ag1	15 Ag1	17 Ag1	19 Ag1	21 Ag1
C	1 Ag2	3 Ag2	5 Ag2	7 Ag2	9 Ag2	S3	S3	13 Ag2	15 Ag2	17 Ag2	19 Ag2	21 Ag2
D	1 M	3 M	5 M	7 M	9 M	S4	S4	13 M	15 M	17 M	19 M	21 M
E	2 N	4 N	6 N	8 N	10 N	11 N	12 N	14 N	16 N	18 N	20 N	22 N
F	2 Ag1	4 Ag1	6 Ag1	8 Ag1	10 Ag1	11 Ag1	12 Ag1	14 Ag1	16 Ag1	18 Ag1	20 Ag1	22 Ag1
G	2 Ag2	4 Ag2	6 Ag2	8 Ag2	10 Ag2	11 Ag2	12 Ag2	14 Ag2	16 Ag2	18 Ag2	20 Ag2	22 Ag2
H	2 M	4 M	6 M	8 M	10 M	11 M	12 M	14 M	16 M	18 M	20 M	22 M

Figure 2. **Configuration recommandée de plaque ELISA.** S1 (étalon 1), S2 (étalon 2), S3 (étalon 3), S4 (étalon 4). 1N (échantillon 1. Plasma de contrôle Nil), 1 Ag1 (échantillon 1. Plasma Ag1), 1 Ag2 (échantillon 1. Plasma Ag2), 1M (échantillon 1. Plasma Mitogen).

9. Couvrir la plaque ELISA puis mélanger soigneusement le conjugué et les échantillons de plasma/étalons en utilisant un agitateur de microplaque pendant 1 minute entre 500 et 1 000 tr/min. Éviter les projections de liquide.
10. Couvrir la plaque ELISA et incuber à température ambiante ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) pendant  $120 \pm 5$  minutes. La plaque ELISA ne doit pas être exposée à la lumière directe du soleil pendant l'incubation. Le non-respect de la plage de températures spécifiée peut fausser les résultats.
11. Pendant l'incubation de la plaque ELISA, préparer le tampon de lavage prêt à l'emploi. Diluer une mesure du concentré du tampon de lavage 20x avec 19 mesures d'eau déionisée ou distillée et mélanger soigneusement. Une quantité suffisante de concentré de tampon de lavage 20x est fournie pour préparer 2 litres de tampon de lavage prêt à l'emploi.
12. Au terme de l'incubation de la plaque ELISA, laver les puits de la plaque ELISA avec 400 µl de tampon de lavage prêt à l'emploi. Appliquer l'étape de lavage au moins 6 fois. Pour des raisons de sécurité, un laveur de microplaques automatique est recommandé lors de la manipulation des échantillons de plasma.

Il est très important de procéder soigneusement au lavage avant d'exécuter le dosage. Veiller à ce que chaque puits soit rempli à ras bord de tampon de lavage pour chaque cycle de lavage. Un temps de trempage d'au moins 5 secondes est recommandé entre chaque cycle.

Un désinfectant de laboratoire standard doit être ajouté au réservoir d'effluent et les procédures établies pour la décontamination de matériel potentiellement infectieux doivent être suivies.

13. Tapoter la plaque ELISA face vers le bas sur une serviette absorbante (peu pelucheuse) pour éliminer le tampon de lavage résiduel. Ajouter 100 µl de solution de substrat enzymatique dans chaque puits de la plaque, couvrir la plaque puis mélanger soigneusement en utilisant un agitateur de microplaque pendant 1 minute entre 500 et 1 000 tr/min.

- 
14. Couvrir la plaque ELISA et incuber à température ambiante ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) pendant 30 minutes. La plaque ELISA ne doit pas être exposée à la lumière directe du soleil pendant l'incubation.
  15. Après l'incubation de 30 minutes, ajouter 50  $\mu\text{l}$  de solution de blocage d'enzyme dans chaque puits de la plaque dans l'ordre suivi pour ajouter le substrat puis mélanger soigneusement en utilisant un agitateur de microplaque entre 500 et 1 000 tr/min.
  16. Mesurer la densité optique (DO) de chaque puits de la plaque ELISA au cours des 5 minutes suivant l'arrêt de la réaction en utilisant un lecteur de microplaques équipé d'un filtre de 450 nm et d'un filtre de référence de 620 nm à 650 nm. Les valeurs de DO sont utilisées pour calculer les résultats.

# Résultats (Calculs)

Le logiciel d'analyse QFN SARS peut être utilisé pour analyser les données brutes et calculer les résultats. Il peut être téléchargé sur [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Vérifier que la version la plus récente du logiciel d'analyse QFN SARS est utilisée.

Le logiciel effectue une évaluation de contrôle qualité du dosage, génère une courbe étalon et fournit un résultat de test pour chaque sujet, comme détaillé dans la section « Interprétation des résultats » page 28. Le logiciel indique toutes les concentrations supérieures à 10 UI/ml comme « >10 », autrement dit ces valeurs se trouvent au-delà de la plage linéaire validée d'ELISA.

Au lieu d'utiliser le logiciel d'analyse QFN SARS, il est possible de déterminer les résultats en appliquant la méthode suivante.

## Génération d'une courbe étalon et de valeurs d'échantillons

Si le logiciel d'analyse QFN SARS n'est pas utilisé

Si le logiciel d'analyse QFN SARS n'est pas utilisé, la détermination de la courbe étalon et des valeurs UI/ml des échantillons nécessite un tableur comme Microsoft® Excel®.

### Utilisation d'un tableur

1. Déterminer les valeurs de DO moyennes des réplicats de l'étalon du kit pour chaque plaque.
2. Établir une courbe étalon  $\log_{(e)} - \log_{(e)}$  en traçant le  $\log_{(e)}$  de la DO moyenne (axe des y) en fonction du  $\log_{(e)}$  de la concentration en IFN- $\gamma$  des étalons en UI/ml (axe des x), en omettant l'étalon zéro dans ces calculs. Déterminer la ligne correspondant le mieux à la courbe étalon par analyse de régression.

3. Utiliser la courbe étalon pour déterminer la concentration en IFN- $\gamma$  (UI/ml) de chacun des échantillons de plasma du test à l'aide de la valeur de DO de chaque échantillon.
4. Ces calculs peuvent être effectués à l'aide des packs logiciels disponibles avec les lecteurs de microplaques ainsi qu'avec les tableurs ou logiciels de statistiques classiques (comme Microsoft Excel). Il est recommandé d'utiliser ces packs logiciels pour calculer l'analyse de régression, le coefficient de variation (CV en %) pour les étalons et le coefficient de corrélation ( $r$ ) de la courbe étalon.

### Calcul d'échantillon

Si les résultats de DO suivants ont été obtenus pour les étalons, les calculs utilisant  $-\log(e)$  – doivent suivre ceux du Tableau 2.

**Tableau 2. Courbe étalon**

Étalon	UI/ml	Valeurs de DO a et b	DO moyenne	CV en %	Log <sub>(e)</sub> UI/ml	Log <sub>(e)</sub> (DO) moyenne
Étalon 1	4	1,089 ; 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Étalon 2	1	0,357 ; 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Étalon 3	0,25	0,114 ; 0,136	0,125	S.O.	-1,386	-2,079
Étalon 4	0	0,034 ; 0,037	0,036	S.O.	S.O.	S.O.

L'équation de la courbe est  $y = 0,7885(X) - 0,9837$ , où « m » = 0,7885 et « c » = -0,9837. Ces valeurs sont utilisées dans l'équation  $X = (Y-c)/m$  pour résoudre X. En fonction de la courbe étalon, le coefficient de corrélation calculé ( $r$ ) = 1,000. S.O. : sans objet.

La validité du dosage est déterminée à l'aide des critères spécifiés dans « Contrôle qualité du test », page 26.

La courbe étalon (Tableau 2) permet de convertir les réponses de la DO aux antigènes en unités internationales (UI/ml).

**Tableau 3. Calcul d'échantillon**

Antigène	Valeur de la DO	Log <sub>(e)</sub> Valeur de la DO	X	e <sup>x</sup> (UI/ml)	Antigène – Nil (UI/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	-
Ag1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,15
Ag2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

Les valeurs d'IFN- $\gamma$  (en UI/ml) pour Ag1, Ag2 et Mitogen sont corrigées pour le fond en soustrayant la valeur UI/ml obtenue pour le contrôle Nil correspondant. Ces valeurs corrigées sont utilisées pour interpréter les résultats du test.

## Contrôle qualité du test

La fiabilité des résultats du test dépend de la précision de la courbe étalon. Il faut donc examiner les résultats dérivés des étalons avant d'interpréter les résultats des échantillons de test.

Pour que le test ELISA soit valide :

- La valeur de DO moyenne de l'étalon 1 doit être  $\geq 0,600$ .
- Le CV des valeurs des répliquats de l'étalon 1 et de l'étalon 2 doit être  $\leq 15 \%$ .
- Les valeurs de DO des répliquats pour l'étalon 3 et l'étalon 4 ne doivent pas s'écarter de plus de 0,040 unité de densité optique de leur valeur moyenne.
- Le coefficient de corrélation ( $r$ ) calculé à partir des valeurs d'absorbance moyennes des étalons doit être  $\geq 0,98$ .
- Si les critères ci-dessus ne sont pas respectés, l'analyse n'est pas valide et doit être répétée.
- La valeur de DO moyenne de l'étalon zéro (diluant vert) doit être  $\leq 0,150$ . Si la valeur de DO moyenne est  $> 0,150$ , la procédure de lavage des plaques doit être réévaluée.

---

Le logiciel d'analyse QFN SARS calcule et rapporte ces paramètres de contrôle qualité.

Il incombe à chaque laboratoire de déterminer les types de matériels de contrôle qui conviennent ainsi que la fréquence de test en fonction des réglementations locales, régionales, nationales, ou d'autres organismes d'agrément concernés. Il convient d'appliquer les procédures d'évaluation de la qualité externe et autres procédures de validation.

Remarque : les plasmas additionnés d'IFN- $\gamma$  recombinant ont affiché des réductions de concentration jusqu'à 50 % en étant conservés entre 2 et 8 °C et à -20 °C. L'IFN- $\gamma$  recombinant n'est pas recommandé pour définir des étalons de contrôle dans des échantillons de plasma.

# Interprétation des résultats

Les résultats du QFN SARS sont interprétés en utilisant les critères suivants (Tableau 4).

**Important :** le dosage QFN SARS doit être utilisé avec d'autres tests de laboratoire et une évaluation épidémiologique/clinique afin d'évaluer la réponse immunitaire d'une personne suite à une vaccination contre la COVID-19.

**Tableau 4. Interprétation des résultats du test QFN SARS**

Nil (UI/ml)	Antigène Ag1 moins Nil (UI/ml)	Antigène Ag2 moins Nil (UI/ml)	Mitogen moins Nil (UI/ml)*	Résultat du QFN SARS	Rapport/Interprétation
≤ 8,0	≥ 0,15 et ≥ 25 % de Nil	Toute valeur	Toute valeur	Réactif	Réponse au SARS-CoV-2 détectée
	Toute valeur	≥ 0,15 et ≥ 25 % de Nil			
	< 0,15 ou ≥ 0,15 et < 25 % de Nil	< 0,15 ou ≥ 0,15 et < 25 % de Nil	≥ 0,50	Non réactif	Réponse au SARS-CoV-2 NON détectée
	< 0,15 ou ≥ 0,15 et < 25 % de Nil	< 0,15 ou ≥ 0,15 et < 25 % de Nil	< 0,50	Indéterminé <sup>‡</sup>	Réponse au SARS-CoV-2 et Mitogen impossibles à détecter
>8,0 <sup>§</sup>	Toute valeur				

\*Les réponses au contrôle positif Mitogen (et parfois les réponses aux antigènes Ag) peuvent être en dehors de la plage du lecteur de microplaques. Cela n'a pas d'impact sur les résultats du test. Les valeurs > 10 UI/ml sont rapportées par le logiciel QFN SARS comme > 10 UI/ml.

<sup>‡</sup> Se reporter à la section « Guide de dépannage », page 51 pour les causes possibles.

<sup>§</sup> Dans les études cliniques, moins de 0,25 % des sujets présentaient des taux d'IFN-γ > 8,0 UI/ml pour la valeur Nil.

# Limitations

Les résultats du test QFN SARS doivent être utilisés en complément des antécédents épidémiologiques, du statut médical actuel et d'autres évaluations diagnostiques de chaque individu.

Les individus dont les valeurs Nil sont supérieures à 8 UI/ml sont considérés comme ayant des résultats « indéterminés », car une réponse 25 % plus élevée aux antigènes Ag peut se situer hors de la plage de mesure du dosage.

- Un résultat non réactif doit être observé en complément du statut médical et des antécédents de l'individu en rapport avec une probable réponse immunitaire à la vaccination, tout particulièrement chez les individus immunodéprimés.
- Le dosage QFN SARS doit être utilisé avec d'autres tests de laboratoire et une évaluation épidémiologique/clinique afin d'évaluer la réponse immunitaire d'une personne suite à une vaccination contre la COVID-19.

Des résultats non fiables ou indéterminés peuvent survenir dans les cas suivants :

- Le non-respect de la procédure décrite dans le mode d'emploi
- Un transport/une manipulation incorrect(e) de l'échantillon de sang
- Des taux élevés d'IFN- $\gamma$  circulant ou la présence d'anticorps hétérophiles
- Un délai trop important entre le prélèvement sanguin et l'incubation. Se reporter au *mode d'emploi des QFN SARS Blood Collection Tubes* (1124422).

---

# Caractéristiques de performances du dosage

## Performances analytiques

### Valeur seuil du dosage

La valeur seuil du dosage QFN SARS a été déterminée à l'aide des données de vingt (20) sujets testés non réactifs au SARS-CoV-2 avec un test RT-PCR ou un test sérologique et vingt (20) donneurs ayant un schéma vaccinal complet (entre 2 et 16 semaines après la dernière dose de vaccin) avec un vaccin autorisé par l'organisme d'autorisation d'utilisation d'urgence (EUA) de la FDA. Les données de sensibilité et spécificité ainsi que les intervalles de confiance (IC) bilatéraux exacts à 95 % ont été analysés et ont révélé que la valeur seuil ELISA optimale était de 0,15 UI/ml (voir Tableau 5).

**Tableau 5. Valeurs seuil du QFN SARS (UI/ml) ainsi que sensibilité et spécificité correspondantes avec IC bilatéral exact à 95 %**

Valeur seuil	Sensibilité			Spécificité		
	Valeur	IC à 95 % inférieur	IC à 95 % supérieur	Valeur	IC à 95 % inférieur	IC à 95 % supérieur
0,1	1,000	0,940	1,000	0,933	0,838	0,982
0,15	0,983	0,911	1,000	1,000	0,940	1,000
0,2	0,900	0,795	0,962	1,000	0,940	1,000
0,25	0,733	0,603	0,839	1,000	0,940	1,000
0,3	0,717	0,586	0,825	1,000	0,940	1,000
0,35	0,650	0,516	0,769	1,000	0,940	1,000
0,4	0,600	0,465	0,724	1,000	0,940	1,000
0,45	0,567	0,432	0,694	1,000	0,940	1,000
0,5	0,467	0,337	0,600	1,000	0,940	1,000
0,55	0,433	0,306	0,568	1,000	0,940	1,000
0,6	0,400	0,276	0,535	1,000	0,940	1,000
0,65	0,333	0,217	0,467	1,000	0,940	1,000
0,7	0,317	0,203	0,450	1,000	0,940	1,000
0,75	0,300	0,188	0,432	1,000	0,940	1,000
0,8	0,300	0,188	0,432	1,000	0,940	1,000

## Linéarité

La linéarité du QFN SARS ELISA a été démontrée en plaçant 5 réplicats de 11 pools de plasma de concentrations en IFN- $\gamma$  connues de manière aléatoire sur la plaque ELISA. La droite de régression linéaire présente une pente de  $1,002 \pm 0,011$  et un coefficient de corrélation de 0,99 (Figure 3).

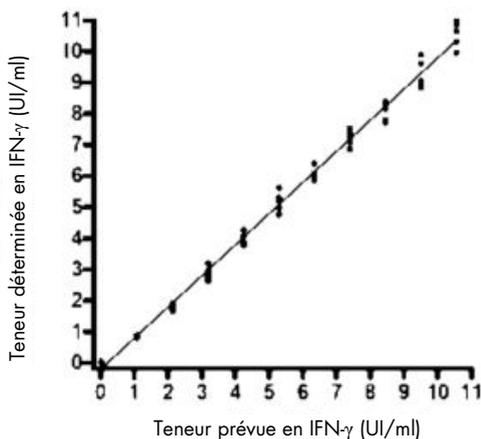


Figure 3. Illustration de l'analyse de régression pour l'étude de linéarité.

## Reproductibilité

Une étude de reproductibilité concernant plusieurs laboratoires a été menée pour évaluer les performances du dosage QFN SARS sur plusieurs laboratoires avec plusieurs opérateurs. Cette étude a été menée dans trois laboratoires équipés par QIAGEN. Au total, trois (3) sujets réactifs au SARS-CoV-2 et trois (3) sujets non réactifs au SARS-CoV-2 (déterminés par test RT-PCR ou test sérologique) ont été intégrés à l'étude.

Du sang distribué dans quatre (4) tubes de prélèvement sanguin avec héparine de lithium a été prélevé sur chaque sujet de l'étude. Les tubes de prélèvement sanguin avec héparine de lithium ont ensuite été transférés vers l'un des laboratoires de test où le sang a été aliquoté

dans trois (3) jeux de QFN SARS Blood Collection Tubes (QFN SARS Ag1, Ag2, Mitogen et Nil). Un jeu de chaque QFN SARS Blood Collection Tube (BCT) a été transféré vers chacun des laboratoires de test puis testé suivant la procédure de dosage QFN SARS. Chaque sujet a été testé avec dix (10) réplicats (cinq [5] réplicats pour Ag1 et cinq [5] réplicats pour Ag2) dans chaque laboratoire. Dans chaque laboratoire, un (1) opérateur a réalisé le test QFN SARS de façon indépendante. Chaque opérateur ignorait les résultats obtenus par les autres opérateurs ainsi que les résultats du test RT-PCR ou sérologique du sujet de l'étude.

30 résultats ont été générés dans chacun des trois (3) laboratoires de test, ce qui donne un total de 90 points de données. Une synthèse des résultats de l'étude de reproductibilité est présentée dans le Tableau 6.

**Tableau 6. Résumé des résultats de l'étude de reproductibilité – N = 30 échantillons de patients**

<b>Laboratoire 1 – 1 opérateur</b>	<b>Laboratoire 2 – 1 opérateur</b>	<b>Laboratoire 3 – 1 opérateur</b>
25/30 = 83 %	30/30 = 100 %	30/30 = 100 %
Concordance des résultats qualitatifs	Concordance des résultats qualitatifs	Concordance des résultats qualitatifs

Le pourcentage de concordance globale sur l'ensemble des échantillons réactifs et non réactifs par rapport aux résultats qualitatifs attendus (sujet réactif donnant un résultat réactif et sujet non réactif donnant un résultat non réactif d'après le résultat de la méthode de référence du sujet) était de 94,4 % (85/90) sur l'ensemble des trois (3) laboratoires.

### Répétabilité inter-lots

Une étude a été menée pour déterminer la variabilité inter-lots des QFN SARS Blood Collection Tubes. Au total, deux (2) sujets d'étude réactifs au SARS-CoV-2 et trois (3) non réactifs au SARS-CoV-2 (déterminés par test RT-PCR ou test sérologique) ont été testés. Trois (3) lots distincts de chacun des QFN SARS Blood Collection Tubes Ag1 et Ag2 ont été intégrés à cette étude. Cinq (5) réplicats par donneur par lot de tubes de prélèvement sanguin ont été testés. Une synthèse des résultats de la précision inter-lots est présentée dans le Tableau 7.

**Tableau 7. Synthèse des résultats de l'étude de précision inter-lots – Pourcentage de concordance globale pour les QFN SARS Blood Collection Tubes Ag1 et Ag2 ; N = 25**

QFN SARS BCT	Numéro de lot de BCT	Nombre d'appels qualitatifs dans la concordance/Total des appels	Proportion	Limite de confiance inférieure	Limite de confiance supérieure
Ag1	1	25/25	100,00 %	86,28 %	100,00 %
	2	25/25	100,00 %	86,28 %	100,00 %
	3	25/25	100,00 %	86,28 %	100,00 %
Ag2	1	25/25	100,00 %	86,28 %	100,00 %
	2	25/25	100,00 %	86,28 %	100,00 %
	3	25/25	100,00 %	86,28 %	100,00 %

Le pourcentage de concordance globale sur l'ensemble des échantillons réactifs et non réactifs par rapport aux résultats attendus (sujet réactif donnant un résultat réactif et sujet non réactif donnant un résultat non réactif d'après le résultat de la méthode de référence du sujet) était de 100 % sur l'ensemble des trois (3) lots de QFN SARS BCT Ag1 et Ag2.

#### Limite du blanc (Limit of Blank, LoB)

La limite du blanc (Limit of Blank, LoB) a été évaluée pour le dosage QFN SARS. Deux (2) réplicats de chacun des quatorze (14) échantillons de plasma humain sain (les blancs) ont été testés avec deux (2) lots de QFN SARS ELISA par trois (3) opérateurs sur trois (3) jours de test, un (1) opérateur par jour de test, soit un total de 84 réplicats de chaque lot de kits ELISA.

Les valeurs de LoB (UI/ml) pour les deux (2) lots de kits ELISA ont été calculées séparément comme indiqué dans le Tableau 8.

**Tableau 8. Valeurs de LoB (UI/ml) pour les deux (2) lots de kits QFN SARS ELISA**

QFN SARS ELISA Kit	LoB estimée (UI/ml)
Kit 1	0,030
Kit 2	0,040

La valeur de LoB la plus importante, 0,040 UI/ml, sur les deux lots de kits QFN SARS ELISA, a été présentée comme la valeur de LoB finale.

### Limite de détection (Limit of Detection, LoD)

La limite de détection (Limit of Detection, LoD) a été évaluée pour le dosage QFN SARS. Un pool de plasma humain a été généré en regroupant quatorze (14) échantillons de plasma individuels. Chacun des trois (3) opérateurs a préparé une réserve d'étalon d'IFN- $\gamma$  de référence à 1,0 UI/ml diluée dans un tampon. Une série de dilution de huit (8) concentrations a été effectuée dans du plasma. L'étude a été menée sur trois (3) jours, par trois (3) opérateurs différents avec deux (2) lots de kits QFN SARS ELISA. Pour chaque jour de test, cinq (5) réplicats de chaque concentration dans chaque série de dilution ont été testés, soit un total de 45 réplicats pour chaque dilution de concentration d'IFN- $\gamma$  pour chaque lot de kits QFN SARS ELISA.

La valeur de LoD pour chaque lot de kits QFN SARS ELISA testé a été calculée séparément comme indiqué dans le Tableau 9. La LoD a été estimée à l'aide du modèle de régression probit. La LoD a été basée sur la concentration estimée (UI/ml) qui a donné une probabilité estimée de 95 % en obtenant un taux de détection supérieur à 0,04 UI/ml (déterminé par la LoB).

**Tableau 9. Valeurs de LoD estimées (UI/ml) pour les deux (2) lots QFN SARS ELISA Kit**

QFN SARS ELISA Kit	Probabilité	Concentration estimée (UI/ml)	Limite de confiance inférieure à 95 % pour estimation	Limite de confiance supérieure à 95 % pour estimation
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit2	0,95	0,065	0,060	0,073

La valeur de LoD la plus importante calculée sur les deux lots de kits QFN SARS ELISA, 0,065 UI/ml, a été présentée comme la valeur de LoD finale.

### Substances interférentes

Une étude a été menée pour déterminer les effets de substances potentiellement interférentes sur la détection QFN SARS ELISA de l'IFN- $\gamma$ . Les substances interférentes concernées par ce test sont les suivantes : triglycérides (totales), hémoglobine, protéine (sérum total), bilirubine (conjuguée), bilirubine (non conjuguée), sulfate d'abacavir, cyclosporine et prednisolone. Cinq (5) pools de plasma aux concentrations d'IFN- $\gamma$  connues ont été préparés avec différentes concentrations interférentes. Le taux d'IFN- $\gamma$  du pool de base a été précédemment préparé en présence d'une quantité prédéterminée d'IFN- $\gamma$  (environ 0,21, 0,45 et 1,4 UI/ml). Ce pool a ensuite été utilisé pour préparer les pools interférents. Cinq niveaux différents de concentrations interférentes cibles ont été testés et étaient basés sur les intervalles de référence, les valeurs pathologiques, les plages thérapeutiques et les plages toxiques, ou sur les recommandations du fournisseur ou les taux cliniques généraux. Six (6) réplicats ont été testés pour chaque taux de concentration d'échantillon interférent.

Pour chaque concentration d'échantillon, un test t a été réalisé pour comparer la différence de log<sub>10</sub> moyen (UI/ml) du taux interférent élevé (10) par rapport au contrôle (c.-à-d. un taux non interférent). La différence estimée dans la réponse moyenne, ainsi que les limites de confiance bilatérales à 95 % et la valeur p correspondantes figurent dans le tableau.

**Tableau 10. Log10 UI/ml : tableau de synthèse du test t pour les différences de moyennes entre le contrôle et le taux interférent élevé pour chaque taux interférent et concentration d'IFN- $\gamma$**

Interférent	Taux interférent	Concentration d'échantillon (UI/ml)	Différence moyenne	IC à 95 % inférieur	IC à 95 % supérieur	Valeur p
Triglycérides	Élevé	1,4	0,053	-0,004	0,110	0,063
		0,45	0,039	-0,021	0,058	< 0,001
		0,21	0,034	-0,002	0,071	0,061
Hémoglobine	Élevé	1,4	-0,001	-0,042	0,040	0,967
		0,45	0,016	-0,007	0,040	0,152
		0,21	0,014	-0,030	0,059	0,489
Protéine	Élevé	1,4	-0,030	-0,071	0,011	0,136
		0,45	0,000	-0,046	0,046	0,992
		0,21	-0,045	-0,103	0,012	0,109
Bilirubine conjuguée	Élevé	1,4	0,001	-0,046	0,048	0,961
		0,45	0,012	-0,043	0,067	0,639
		0,21	0,015	-0,044	0,074	0,586
Bilirubine non conjuguée	Élevé	1,4	0,015	-0,011	0,042	0,231
		0,45	0,015	-0,023	0,052	0,411
		0,21	0,012	-0,033	0,057	0,566
Abacavir	Élevé	1,4	0,013	-0,015	0,040	0,322
		0,45	0,015	-0,014	0,044	0,283
		0,21	0,008	-0,034	0,050	0,677

Suite du tableau page suivante

Suite du tableau de la page précédente

**Tableau 10. Log10 UI/ml : tableau de synthèse du test t pour les différences de moyennes entre le contrôle et le taux interférent élevé pour chaque taux interférent et concentration d'IFN- $\gamma$**

Interférent	Taux interférent	Concentration d'échantillon (UI/ml)	Différence moyenne	IC à 95 % inférieur	IC à 95 % supérieur	Valeur p
Cyclosporine	Élevé	1,4	0,002	-0,019	0,024	0,816
		0,45	0,007	-0,030	0,043	0,682
		0,21	0,015	-0,007	0,038	0,155
Prednisolone	Élevé	1,4	0,007	-0,016	0,030	0,518
		0,45	-0,001	-0,034	0,033	0,964
		0,21	0,021	-0,025	0,068	0,334

Les résultats n'ont révélé aucune différence statistiquement significative entre le taux d'interférence le plus élevé et le contrôle (taux non interférent), excepté pour le taux de concentration des triglycérides de 0,45 UI/ml. La différence moyenne pour cette valeur a été déterminée à moins de  $\pm 2$  écarts-types de la mesure du taux de contrôle moyen, ce qui prouve que la différence observée est bien dans la variabilité attendue du dosage et que les taux cliniquement pertinents de triglycérides ne doivent pas interférer avec le QFN SARS ELISA.

---

# Performances cliniques

Les performances cliniques du dosage QFN SARS ont été évaluées dans une étude observationnelle prospective menée de juin à octobre 2021 sur des sujets sans antécédents d'infection au SARS-CoV-2 et qui ont bénéficié de la vaccination contre la COVID-19 avec des vaccins ciblant la protéine S virale du virus SARS-CoV-2, et des sujets sans antécédents d'infection au SARS-CoV-2 et qui n'ont reçu aucun vaccin contre la COVID-19.

Les sujets consentants étaient évalués au regard des critères d'inclusion et d'exclusion de l'étude et seuls les sujets répondant à tous les critères d'inclusion mais à aucun critère d'exclusion étaient intégrés et soumis au prélèvement sanguin pour le QFN SARS.

Une synthèse des patients intégrés à l'étude est présentée ci-dessous :

- Groupe 1 : sujets sans antécédents d'infection naturelle au SARS-CoV-2, qui n'avaient reçu aucun vaccin contre la COVID-19 au moment du prélèvement sanguin pour le QFN SARS, n'avaient jamais été testés positifs au SARS-CoV-2, présentaient un résultat non réactif au test sérologique et n'ont présenté aucun signe ni symptôme de COVID-19 dans les 4 semaines précédant l'intégration.
- Groupe 2 : sujets sans antécédents d'infection au SARS-CoV-2, qui avaient reçu un vaccin contre la COVID-19 ciblant la protéine S du SARS-CoV-2 au moment du prélèvement sanguin pour le QFN SARS et n'avaient jamais été testés positifs au SARS-CoV-2.
- Aucun des sujets n'avait bénéficié d'une greffe (organe solide ou cellules) et/ou n'était sous traitement anticancéreux au moment de sa participation à l'étude.

Au total, 218 sujets ont intégré le groupe 1 et 171 sujets le groupe 2. Après le prélèvement sanguin pour le QFN SARS, quatre sujets du groupe 1 se sont révélés non éligibles en raison d'un résultat réactif au test sérologique effectué sur un échantillon prélevé au même moment que le prélèvement sanguin pour le QFN SARS et ont donc été exclus de l'analyse.

Les échantillons ont été prélevés, les QFN SARS Blood Collection Tubes ont été traités puis le plasma a été conservé à  $\leq -20$  °C jusqu'au test QFN SARS ELISA. Toutes les analyses des plaques QFN SARS ELISA ont été valides, aucun résultat indéterminé n'a été obtenu, ce qui a donné respectivement 214 et 171 échantillons évaluable dans les groupes 1 et 2.

## Données démographiques

Le nombre d'échantillons prélevés dans chaque pays et le pourcentage total pour chaque groupe d'étude sont présentés dans le Tableau 11.

**Tableau 11. Synthèse du prélèvement des échantillons par pays**

Pays de prélèvement des échantillons	Groupe 1		Groupe 2	
	N	%	N	%
<b>Pays-Bas</b>	214	100,00 %	153	89,47 %
<b>États-Unis</b>	0	0,00 %	18	10,53 %

Une synthèse de l'âge des sujets, y compris l'âge moyen, médian, minimal et maximal, ainsi que l'écart-type (ET) d'âge, est présentée dans le Tableau 12.

**Tableau 12. Synthèse de l'âge des sujets (ans)**

N	Moyenne	Médiane	ET	Minimum	Maximum
385	40,47	37,00	14,168	18,00	80,00

Une synthèse du sexe des sujets est présentée dans le Tableau 13.

**Tableau 13. Synthèse du sexe des sujets**

Sexe	N	%
Féminin	234	60,78 %
Masculin	151	39,22 %

### Spécificité

La concordance clinique comparant les résultats du QFN SARS à ceux de la méthode de référence est présentée dans le Tableau 14.

**Tableau 14. Concordance clinique : Résultat du QFN SARS vs méthode de référence**

		Résultat de la méthode de référence		
		Groupe 1 (- vaccin, - infection)	Groupe 2 (+ vaccin, - infection)	Total
Résultat du QFN SARS	Non réactif	199	34	233
	Réactif	15	137	152
Total		214	171	385

Pour les sujets non vaccinés (groupe 1), 199 sur 214 ont été testés non réactifs avec le QFN SARS, les 15 restants ont été testés réactifs. Pour les sujets vaccinés (groupe 2), 137 sur 171 ont été testés réactifs avec le QFN SARS, les 34 restants ont été testés non réactifs. Aucun des 15 et 34 échantillons discordants des groupes 1 et 2, respectivement, n'ont bénéficié de tests supplémentaires avec une méthode discordante.

Le pourcentage de concordance négative (Negative percent agreement, NPA) (spécificité) a été calculé pour les sujets non vaccinés (groupe 1) avec l'intervalle de confiance (IC) bilatéral exact à 95 %, il est présenté dans le Tableau 15.

**Tableau 15. Pourcentage de concordance négative (spécificité)**

N° de groupe	NPA (spécificité)	IC à 95 %
Groupe 1 (- vaccin, - infection)	92,99 % (199/214)	88,70–96,02 %

## Sensibilité

Le pourcentage de concordance positive (Positive percent agreement, PPA) (sensibilité) a été calculé pour les sujets vaccinés (groupe 2) avec l'intervalle de confiance (IC) bilatéral exact à 95 %, il est présenté dans le Tableau 16.

**Tableau 16. Pourcentage de concordance positive (sensibilité)**

N° de groupe	PPA (sensibilité)	IC à 95 %
Groupe 2 (+ vaccin, - infection)	80,12 % (137/171)	73,34–85,82 %

## Pourcentage de concordance positive par âge

Pour les sujets vaccinés (groupe 2), le pourcentage de concordance positive a été classé par âge, < 60 et ≥ 60 ans, il est présenté dans le Tableau 17.

**Tableau 17. Pourcentage de concordance positive par âge : < 60 et ≥ 60 ans**

Tranche d'âge (ans)	PPA (sensibilité)	IC à 95 %
< 60	85,33 % (128/150)	78,78–90,64 %
≥ 60	42,86 % (9/21)	21,82–65,98 %

## Pourcentage de concordance positive par vaccin contre la COVID-19

Pour les sujets vaccinés (groupe 2), le pourcentage de concordance positive a été classé par vaccin contre la COVID-19 reçu, il est présenté dans le Tableau 18.

**Tableau 18. Pourcentage de concordance positive par vaccin contre la COVID-19**

Vaccin	PPA (sensibilité)	IC à 95 %
Astra Zeneca	62,50 % (5/8)	24,49–91,48 %
Janssen (Johnson & Johnson)	86,67 % (13/15)	59,54–98,34 %
Moderna	77,27 % (17/22)	54,63–92,18 %
Pfizer - BioNTech	80,95 % (102/126)	73,00–87,40 %

## Facteurs associés à des résultats non réactifs chez les sujets vaccinés

Pour déterminer si l'avancée en âge, le temps écoulé depuis la deuxième dose de vaccin contre la COVID-19, le type de vaccin reçu et le sexe ont une incidence sur les résultats non réactifs chez les sujets vaccinés (groupe 2), une analyse de régression logistique univariée a été effectuée. L'influence de chaque facteur sur les résultats non réactifs a été déterminée en termes de rapport des cotes (RC), les résultats sont présentés dans le Tableau 19.

**Tableau 19. Lien entre les facteurs et les résultats non réactifs chez les sujets vaccinés**

Critères		RC (IC 95 %)	Valeur p
Âge (ans)		1,08 (1,05–1,12)	< 0,001
Temps écoulé entre la vaccination et le prélèvement sanguin pour le QFN SARS (jours)		1,02 (1,01–1,03)	< 0,001
Vaccin	Pfizer – BioNTech	1	–
	Astra Zeneca	2,55 (0,57–11,42)	0,221
	Janssen (Johnson & Johnson)	0,65 (0,14–3,09)	0,592
	Moderna	1,25 (0,42–3,72)	0,689
Sexe	Féminin	1	–
	Masculin	1,25 (0,59–2,65)	0,565

Les seuls facteurs qui ont eu une incidence notable sur les résultats non réactifs chez les sujets vaccinés étaient l'âge et le temps écoulé depuis la vaccination.

Dans la mesure où l'étude a été menée dans des pays dans lesquels les vaccins contre la COVID-19 ont été proposés en priorité aux seniors, l'âge a pu avoir une incidence sur le lien entre le temps écoulé depuis la vaccination et les résultats non réactifs. Le Tableau 20 affiche l'analyse de régression avec l'âge comme covariable.

**Tableau 20. Lien entre les facteurs et les résultats non réactifs avec âge contrôlé**

Critères	RC (IC 95 %)	Valeur p
Âge (ans)	1,07 (1,03–1,11)	< 0,001
Temps écoulé entre la vaccination et le prélèvement sanguin pour le QFN SARS (jours)	1,01 (1,00–1,02)	0,214

---

Lorsque l'âge est contrôlé, le lien entre le temps écoulé depuis la vaccination et les résultats non réactifs n'est plus significatif, pour autant l'âge conserve une incidence non négligeable.

---

## Références

1. Goletti D., Petrone L, Manissero D, Bertoletti A, Rao S, Ndunda N, et al. The potential clinical utility of measuring SARS-CoV-2-specific T-cell responses. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2021 Jul [cited 2021 Jul 13];0(0). Available from: <http://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198743X21003785/fulltext>
2. Petrone L., Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Najafi Fard S, Alonzi T, et al. A whole blood test to measure SARS-CoV-2-specific response in COVID-19 patients. *Clin Microbiol Infect*. 2021
3. Petrone L., Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Gualano G, Vittozzi P, et al. Coinfection of tuberculosis and COVID-19 limits the ability to in vitro respond to SARS-CoV-2. *Int J Infect Dis*. 2021
4. Shrotri M., van Schalkwyk MCI, Post N, Eddy D, Huntley C, Leeman D, et al. T cell response to SARS-Cov-2 infection in humans: A systematic review. *PLoS ONE*. 2021
5. Alessandra D’Abramo, Serena Vita, Gaetano Maffongelli, Andrea Mariano , Chiara Agrati , Concetta Castilletti ,Delia Goletti, Giuseppe Ippolito, Emanuele Nicastrì SC-19 CIT. Prolonged and severe SARS-CoV-2 infection inpatients under B-cell-depleting drug successfully treated: A tailored approach. *Int J Infect Dis*. 2021;(107):247–50
6. Soresina A, Moratto D, Chiarini M, Paolillo C, Baresi G, Focà E, et al. Two X-linked agammaglobulinemia patients develop pneumonia as COVID-19 manifestation but recover. *Pediatr Allergy Immunol*. 2020
7. Quinti I, Lougaris V, Milito C, Cinetto F, Pecoraro A, Mezzaroma I, et al. A possible role for B cells in COVID-19? Lesson from patients with agammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol*. 2020

8. Geers D, Shamier MC, Bogers S, den Hartog G, Gommers L, Nieuwkoop NN, et al. SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. *Sci Immunol* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2021 Jun 30];6(59). Available from: <http://immunology.sciencemag.org/>
9. Alter G, Yu J, Liu J, Chandrashekar A, Borducchi EN, Tostanoski LH, McMahan K, Jacob-Dolan C, Martinez DR, Chang A, Anioke T, Lifton M, Nkolola J, Stephenson KE, Atyeo C, Shin S, Fields P, Kaplan I, Robins H, Amanat F, Krammer F, Baric RS, Le Gars M, Sado BD. Immunogenicity of Ad26.COV2.S vaccine against SARS-CoV-2 variants in humans. *Nature*. 2021
10. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science* (80- ) [Internet]. 2021 Feb 5 [cited 2021 Jun 30];371(6529). Available from: <https://doi.org/10.1126/science.abf4063>
11. Chavarot N, Ouedrani A, Marion O, Leruez-Ville M, Villain E, Baaziz M, et al. Poor Anti-SARS-CoV-2 Humoral and T-cell Responses After 2 Injections of mRNA Vaccine in Kidney Transplant Recipients Treated with Belatacept. *Transplantation* [Internet]. 2021 Apr 8 [cited 2021 Jul 1];2. Available from: [https://journals.lww.com/transplantjournal/Fulltext/9000/Poor\\_Anti\\_SARS\\_CoV\\_2\\_Humoral\\_and\\_T\\_cell\\_Responses.95281.aspx](https://journals.lww.com/transplantjournal/Fulltext/9000/Poor_Anti_SARS_CoV_2_Humoral_and_T_cell_Responses.95281.aspx)
12. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin JB, Olsson A, et al. Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. *Cell*. 2020
13. Alberto M. Borobia, Antonio J Carcas, Mayte Pérez-Olmeda, Luis Castaño, María Jesús Bertran, Javier García-Pérez, Magdalena Campins, Antonio Portolés, María González-Pérez, María Teresa García Morales, Eunáte Arana-Arri, Marta Aldea, Francisco Díez-Fuerte CSG. Immunogenicity and reactogenicity of BNT162b2 booster in ChAdOx1-S

- 
- primed participants (CombiVacS): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2021
14. Mónica Martínez-Gallo, Juliana Esperalba-Esquerria, Ricardo Pujol-Borrell, Víctor Sandá, Iria Arrese-Muñoz, Candela Fernández Naval, Andrés Antón Pagarolas, Victoria Cardona, Moisés Labrador-Horrillo, Tomás Pumarola-Suñé MH-G. T-cell responses as a correlate of COVID-19 vaccination. A pilot study in Health Care Workers
15. Van Praet JT, Vandecasteele S, De Roo A, De Vriese AS, Reynders M. Humoral and cellular immunogenicity of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in nursing home residents. *Clin Infect Dis*. 2021
16. Pedersen RM, Tornby DS, Bistrup C, Johansen IS, Andersen TE JU. Negative SARS-CoV-2 antibodies, T cell response and virus neutralization following full vaccination in a renal transplant recipient: a call for vigilance. *Clin Microbiol Infect*. 2021
17. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*. 2020
18. Rydzynski Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, Grifoni A, Hastie KM, Weiskopf D, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell*. 2020
19. Tan AT, Linster M, Tan CW, Le Bert N, Chia WN, Kunasegaran K, et al. Early induction of functional SARS-CoV-2-specific T cells associates with rapid viral clearance and mild disease in COVID-19 patients. *Cell Rep*. 2021
20. Aiello A, Najafi Fard S, Petruccioli E, Petrone L, Vanini V, Farroni C, et al. Spike is the most recognized antigen in the whole-blood platform in both acute and convalescent COVID-19 patients. *Int J Infect Dis*. 2021

- 
21. Soumya Jaganathan, Francis Stieber, Sonia N. Rao, Vladyslav Nikolayevskyy, Nadia Allen, Jeff Boyle JH. Preliminary Evaluation of QuantiFERON SARS-CoV-2 and QIArearch Anti-SARS-CoV-2 Total Test in Recently Vaccinated Individuals. 2021
  22. Zheng M, Gao Y, Wang G, Song G, Liu S, Sun D, et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cellular and Molecular Immunology*. 2020
  23. Aid M, Busman-Sahay K, Vidal SJ, Maliga Z, Bondoc S, Starke C, et al. Vascular Disease and Thrombosis in SARS-CoV-2-Infected Rhesus Macaques. *Cell*. 2020
  24. Kuri-Cervantes L, Pampena MB, Meng W, Rosenfeld AM, Ittner CAG, Weisman AR, et al. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Sci Immunol*. 2020
  25. Lucas C, Wong P, Klein J, Castro TBR, Silva J, Sundaram M, et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*. 2020
  26. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med*. 2020
  27. Peng Y, Mentzer AJ, Liu G, Yao X, Yin Z, Dong D, et al. Broad and strong memory CD4+ and CD8+ T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nat Immunol*. 2020
  28. Sattler A, Angermair S, Stockmann H, Heim KM, Khadzhynov D, Treskatsch S, et al. SARS-CoV-2-specific T cell responses and correlations with COVID-19 patient predisposition. *J Clin Invest*. 2020
  29. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, Greenplate AR, Wu JE, Alanio C, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals patient heterogeneity and distinct immunotypes with implications for therapeutic interventions. *bioRxiv Prepr Serv Biol*. 2020

- 
30. Chen Z, Wherry EJ. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020
31. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, Angus B, Becker S, Belij-Rammerstorfer S, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2020
32. Sahin U, Muik A, Derhovanessian E, Vogler I, Kranz LM, Vormehr M, et al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*. 2020
33. Ryu MR, Park MS, Cho EH, Jung CW, Kim K, Kim SJ, et al. Comparative evaluation of quantiFERON-TB gold in-tube and quantiFERON-TB gold plus in diagnosis of latent tuberculosis infection in immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2021 Jul 1];56(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30135226/>
34. Petruccioli E, Vanini V, Chiacchio T, Cuzzi G, Cirillo DM, Palmieri F, et al. Analytical evaluation of QuantiFERON- Plus and QuantiFERON- Gold In-tube assays in subjects with or without tuberculosis. *Tuberculosis*. 2017

# Guide de dépannage

Ce guide de dépannage peut vous aider à résoudre les problèmes qui pourraient se poser. Pour de plus amples informations, consulter également la page de la Foire Aux Questions dans notre Centre d'assistance technique à l'adresse suivante : [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Les scientifiques des services techniques QIAGEN seront ravis de répondre à toutes les questions sur les informations et/ou protocoles figurant dans ce manuel ou sur les technologies d'échantillons et de dosage (pour les coordonnées, visitez le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Commentaires et suggestions

---

### Dépannage ELISA

#### Développement de couleur non spécifique

- |   |  |
|---|--|
| a) Lavage incomplet de la plaque  | Laver la plaque au moins 6 fois avec 400 µl de tampon de lavage par puits. Plus de 6 cycles de lavage peuvent s'avérer nécessaires en fonction du laveur utilisé. Un temps de trempage d'au moins 5 secondes doit être utilisé entre chaque cycle. |
| b) Contamination croisée des puits ELISA  | Faire attention lors du pipetage et du mélange des échantillons pour réduire le risque de contamination.   |
| c) Kit/composants périmés   | Veiller à utiliser le kit avant la date d'expiration. S'assurer que l'étalon reconstitué et le concentré de conjugué 100x sont utilisés dans les trois mois suivant la date de reconstitution.   |
| d) La solution de substrat enzymatique est contaminée                           | Jeter le substrat en cas de coloration bleue. Vérifier la propreté des réservoirs de réactifs.   |
| e) Mélange du plasma dans les QFN SARS Blood Collection Tubes avant la collecte | Après la centrifugation, éviter de mélanger le plasma par aspiration-refoulement avec la pipette ou par tout autre moyen avant de le collecter. Pendant l'ensemble de la procédure, veiller à ne pas perturber la matière sur la surface du gel.   |

## Commentaires et suggestions

---

### Faible densité optique mesurée pour les étalons

- |  |  |
|--|--|
| a) Erreur de dilution de l'étalon                      | Vérifier que les dilutions de l'étalon du kit sont préparées correctement et conformément à ce mode d'emploi.  |
| b) Erreur de pipetage                                  | Vérifier que les pipettes sont calibrées et utilisées conformément aux instructions du fabricant.  |
| c) Température d'incubation trop faible                | L'incubation d'ELISA doit être effectuée à température ambiante ( $22 \pm 5$ °C).  |
| d) Période d'incubation trop courte                    | L'incubation de la plaque avec le conjugué, les étalons et les échantillons doit durer $120 \pm 5$ minutes. La solution de substrat enzymatique doit être incubée dans la plaque pendant 30 minutes. |
| e) Utilisation du mauvais filtre de lecteur de plaques | La plaque doit être lue à 450 nm en utilisant un filtre de référence de 620 à 650 nm.  |
| f) Les réactifs sont trop froids                       | Tous les réactifs, à l'exception du concentré de conjugué 100x, doivent être ramenés à température ambiante avant de commencer le dosage, ce qui prend environ 1 heure.                              |
| g) Kit/composants périmés                              | Veiller à utiliser le kit avant la date d'expiration. S'assurer que l'étalon reconstitué et le concentré de conjugué 100x sont utilisés dans les 3 mois suivant la date de reconstitution.           |

### Bruit de fond élevé

- |   |  |
|---|--|
| a) Lavage incomplet de la plaque        | Laver la plaque au moins 6 fois avec 400 µl de tampon de lavage par puits. Plus de 6 cycles de lavage peuvent se révéler nécessaires. Un temps de trempage d'au moins 5 secondes doit être utilisé entre chaque cycle. |
| b) Température d'incubation trop élevée | L'incubation d'ELISA doit être effectuée à température ambiante ( $22 \pm 5$ °C).  |

## Commentaires et suggestions

---

- |   |  |
|---|--|
| c) Kit/composants périmés                             | Veiller à utiliser le kit avant la date d'expiration. S'assurer que l'étalon reconstitué et le concentré de conjugué 100x sont utilisés dans les trois mois suivant la date de reconstitution. |
| d) La solution de substrat enzymatique est contaminée | Jeter le substrat en cas de coloration bleue. Vérifier la propreté des réservoirs de réactifs.   |

### Courbe étalon non linéaire et variabilité des doubles

- |   |  |
|---|--|
| a) Lavage incomplet de la plaque  | Laver la plaque au moins 6 fois avec 400 µl de tampon de lavage par puits. Plus de 6 cycles de lavage peuvent se révéler nécessaires. Un temps de trempage d'au moins 5 secondes doit être utilisé entre chaque cycle. |
| b) Erreur de dilution de l'étalon   | Vérifier que les dilutions de l'étalon sont préparées correctement et conformément à ce mode d'emploi.   |
| c) Mélange insuffisant  | Mélanger soigneusement les réactifs par inversion ou en les vortexant doucement avant de les ajouter à la plaque.  |
| d) Technique de pipetage incohérente ou interruption pendant la mise en place du dosage | L'ajout des échantillons et des étalons doit être effectué de manière continue. Tous les réactifs doivent être préparés avant le début du dosage.  |

# Symboles

Les symboles suivants peuvent figurer dans le mode d'emploi ou sur l'emballage et les étiquettes :

Symbole	Définition du symbole
 $\Sigma$ <N>	Contient suffisamment de réactifs pour <N> réactions
	À utiliser avant
<b>IVD</b>	Dispositif médical de diagnostic in vitro
<b>REF</b>	Numéro de référence
<b>LOT</b>	Numéro de lot
<b>MAT</b>	Numéro de matériel (c.-à-d. étiquette de composant)
<b>COMP</b>	Composants
<b>CONT</b>	Contient
<b>NUM</b>	Nombre
<b>GTIN</b>	Code article international (Global Trade Item Number, GTIN)
<b>ECREP</b>	Représentant agréé
<b>R<sub>n</sub></b>	R désigne une révision du mode d'emploi et n représente le numéro de révision
	Limites de température

Symbole

Définition du symbole

---



Fabricant



Consulter le mode d'emploi



Conserver à l'abri des rayons du soleil



Avertissement/attention

## Coordonnées

Pour bénéficier d'une assistance technique et obtenir plus d'informations, consultez notre Centre d'assistance technique à l'adresse **[www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support)**, appelez le 00800-22-44-6000 ou contactez l'un des Services techniques QIAGEN ou l'un de ses distributeurs locaux (voir la quatrième de couverture ou le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

---

# Annexe A : informations techniques

## Résultats indéterminés

Les résultats indéterminés sont peu fréquents et peuvent être liés au statut immunitaire de l'individu testé, mais aussi à un certain nombre de facteurs techniques (p. ex. manipulation/conservation incorrecte des tubes de prélèvement sanguin, lavage incomplet de la plaque ELISA) si le mode d'emploi ci-dessus n'est pas respecté.

Si des problèmes techniques sont suspectés avec le stockage des réactifs, le prélèvement du sang ou la manipulation des échantillons sanguins, répéter tout le test QFN SARS avec de nouveaux échantillons sanguins. Il est possible de répéter le test ELISA de plasmas stimulés si un lavage insuffisant ou un autre écart de procédure avec le test ELISA est suspecté. Les médecins peuvent choisir de prescrire un nouveau prélèvement ou d'autres procédures s'ils le jugent nécessaire.

## Échantillons de plasma coagulés

Si des caillots de fibrine apparaissent avec la conservation à long terme des échantillons de plasma, centrifuger les échantillons pour sédimenter la matière coagulée et faciliter le pipetage du plasma.

## Présence de graisse dans les échantillons de plasma

Il convient d'être prudent en pipettant des échantillons contenant des graisses, ces dernières peuvent boucher les pointes de pipette.

## Annexe B : résumé de la procédure du test ELISA

1. Amener les composants du kit ELISA, excepté le conjugué concentré 100x, à température ambiante pendant au moins 60 minutes.



2. Reconstituer l'étalon du kit à raison de 8,0 UI/ml avec de l'eau distillée ou déionisée. Préparer quatre (4) dilutions de l'étalon.



3. Reconstituer le concentré de conjugué 100x lyophilisé avec de l'eau distillée ou déionisée.

4. Préparer le conjugué prêt à l'emploi dans le diluant vert et ajouter 50 µl dans tous les puits.



5. Ajouter 50 µl des échantillons de plasma de test et 50 µl des étalons dans les puits appropriés. Mélanger avec l'agitateur.



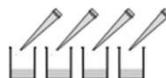
6. Incuber pendant 120 minutes à température ambiante.



7. Laver les puits au moins 6 fois avec 400 µl de tampon de lavage par puits.



8. Ajouter 100 µl de solution de substrat enzymatique aux puits. Mélanger avec l'agitateur.



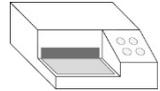
9. Incuber pendant 30 minutes à température ambiante.



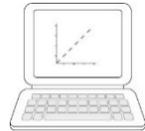
10. Ajouter 50 µl de solution de blocage d'enzyme dans tous les puits. Mélanger avec l'agitateur.



11. Lire les résultats à 450 nm en utilisant un filtre de référence dans la plage de 620 à 650 nm.



12. Analyser les résultats.



# Informations pour commander

<b>Produit</b>	<b>Contenu</b>	<b>N° de réf.</b>
QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit	Kit ELISA à 2 plaques	626420
<b>Produits associés</b>		
QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes	200 tubes (Nil, Ag1, Ag2 et Mitogen, 50 de chaque)	626725

Pour connaître les dernières informations sur les licences et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN correspondant. Les manuels des kits et les manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou peuvent être demandés auprès des services techniques QIAGEN ou de votre distributeur local.

## Historique des révisions du document

<b>Date</b>	<b>Description</b>
R1, octobre 2021	Première version
R2, novembre 2021	Mise à jour des sections Caractéristiques de performances et Performances cliniques
R3, avril 2022	Mise à jour de la section Caractéristiques de performances cliniques pour les Substances interférentes

---

Cette page est intentionnellement laissée vierge.

---

Cette page est intentionnellement laissée vierge.

---

Cette page est intentionnellement laissée vierge.

#### **Accord de licence limitée pour le QuantIFERON® SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit**

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. Le produit doit être utilisé uniquement avec les composants du panel, conformément aux protocoles fournis avec le produit et à ce manuel. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce panel avec tout autre composant non fourni dans ce panel, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, dans ce manuel et dans d'autres protocoles disponibles sur le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Parmi ces protocoles supplémentaires, certains ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour des utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne saurait être tenu pour responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
2. En dehors des licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce panel et/ou sa ou ses utilisations ne violent pas les droits de tiers.
3. Ce panel et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAGEN rejette notamment toutes les autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du panel consentent à ne pas prendre ni autoriser quiconque à prendre, de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions de ce Contrat de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrer tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de Contrat de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au panel et/ou à ses composants.

Pour consulter les mises à jour de la licence, voir le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Marques commerciales : QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantIFERON® (QIAGEN Group), Proclin®. Les noms déposés, les marques commerciales, etc., cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

04-22 1124420 © 2022 QIAGEN, tous droits réservés.

