



FR

Anti-B. burgdorferi IgG

REF

3Z9651G
SM3Z9651G

IVD



Rx Only



UTILISATION PRÉVUE

L'Anti-B. burgdorferi IgG est un système de test basé sur la méthode ELISA destinée à la détection qualitative des anticorps de classe IgG dirigés contre *Borrelia burgdorferi* dans le sérum humain. Ce dosage est destiné à tester des échantillons de sérum provenant de patients présentant des symptômes ou une suspicion de maladie de Lyme.

Les résultats positifs ou douteux obtenus avec l'Anti-B. burgdorferi IgG relatifs à la présence d'anticorps dirigés contre *Borrelia burgdorferi* doivent être confirmés par des tests supplémentaires utilisant l'une des approches suivantes :

- (1) une méthodologie de test standard à deux niveaux (TSDN) à l'aide d'un Western blot pour IgG conformément aux directives actuelles ;

ou

- (2) une méthodologie de test modifié à deux niveaux (TMDN) à l'aide du Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM.

Des résultats de tests positifs par la méthodologie TSDN ou TMDN apportent une preuve supplémentaire de la présence d'anticorps dirigés contre *Borrelia burgdorferi* ou de l'exposition à cette bactérie, qui est la cause de la maladie de Lyme. Un diagnostic de maladie de Lyme doit être établi sur la base de la présence d'anticorps dirigés contre *Borrelia burgdorferi*, des antécédents, des symptômes et d'autres paramètres biologiques.

SIGNIFICATION ET CONTEXTE

Borrelia burgdorferi est une bactérie de la famille des spirochètes qui provoque la maladie de Lyme. Les tiques du genre *Ixodes* transmettent le micro-organisme. Dans les régions endémiques, ces tiques se trouvent fréquemment sur la végétation ou sur les animaux, notamment les cervidés, les souris, les chiens, les chevaux et les oiseaux. Une infection par *B. burgdorferi* montre des caractéristiques communes d'autres infections spirochètales (maladies provoquées par trois genres chez l'homme : *Treponema*, *Borrelia*, et *Leptospira*). La peau est la porte d'entrée de *B. burgdorferi* et la morsure de tique provoque souvent une éruption caractéristique dénommée *érythème migrant* (EM). L'EM se développe autour de la morsure de la tique chez 60 à 80 % des patients. Une spirochètémie apparaît précocement avec une large dissémination dans les tissus et les fluides corporels.

La maladie de Lyme se développe par stades, souvent entrecoupés de périodes de latence, caractérisés par des manifestations cliniques différentes. La maladie de Lyme se caractérise généralement par trois stades, dont les symptômes peuvent se chevaucher. Les symptômes sont variables selon les sites touchés par l'infection, notamment les articulations, la peau, le système nerveux central, le cœur, les yeux, le squelette, la rate et les reins. Les stades tardifs de la maladie sont le plus souvent associés à une arthrite ou des syndromes affectant le système nerveux central (SNC). Une infection subclinique asymptomatique est possible, l'infection ne devenant cliniquement manifeste qu'à des stades plus tardifs.

Les patients présentant une infection précoce produisent des anticorps de classe IgM au cours des premières semaines suivant le déclenchement de l'EM, puis produisent des anticorps IgG plus lentement (1). Les anticorps IgG et IgM peuvent rester détectables pendant plusieurs années.

B. burgdorferi a, dans certains cas, été isolée dans des biopsies cutanées, le sang ou le liquide céphalorachidien (2). Cependant, ces méthodes de détection directes sur culture sont difficiles à mettre en pratique à grande échelle pour le diagnostic de la borréliose de Lyme. Les méthodes de test sérologiques pour la mise en évidence d'anticorps dirigés contre *B. burgdorferi* comprennent l'immunofluorescence indirecte (indirect fluorescent antibody, IFA), l'immunotransfert (immunoblotting) et les méthodes immuno-enzymatiques (enzyme immunoassay, EIA).

B. burgdorferi est complexe sur le plan antigénique, les souches pouvant varier de manière considérable. Les premiers anticorps produits sont généralement dirigés contre la flagelline, qui comprend des composants entraînant des réactions croisées. Au cours des premiers stades de l'infection, les patients peuvent ne pas présenter des niveaux détectables d'anticorps. En outre, un traitement antibiotique précoce après l'apparition d'un EM peut diminuer ou annuler une bonne production d'anticorps. Certains patients ne produisent jamais des niveaux détectables d'anticorps. Par conséquent, les tests sérologiques destinés à mettre en évidence les anticorps dirigés contre *B. burgdorferi* présentent généralement une sensibilité et une spécificité faibles, et cette imprécision ne permet pas de se baser exclusivement sur eux pour établir un diagnostic de maladie de Lyme (3, 4).

En 1994, la deuxième Conférence nationale sur le diagnostic sérologique de la maladie de Lyme a recommandé un système en deux étapes pour la normalisation des tests sérologiques destinés à mettre en évidence *B. burgdorferi*. Dans la mesure où les EIA et l'IFA ne se sont pas avérées suffisamment spécifiques pour appuyer un diagnostic clinique, il a été recommandé que les échantillons produisant des résultats positifs ou douteux obtenus à l'aide d'une méthode sensible d'EIA ou d'IFA (première étape) soient à nouveau testés ou fassent l'objet de tests complémentaires, en utilisant une méthode de Western Blot standardisée (deuxième étape) pour la détection des anticorps dirigés contre *B. burgdorferi* (le Western Blot pour la détection des anticorps dirigés contre *B. burgdorferi* constitue un test complémentaire plutôt qu'une confirmation, car sa spécificité n'est pas optimale, en particulier pour la détection des IgM). Les résultats

positifs obtenus avec cette méthode en deux étapes apportent une preuve supplémentaire de l'exposition à *B. burgdorferi*, et peuvent étayer un diagnostic clinique de maladie de Lyme, mais ne doivent pas être utilisés comme seul critère diagnostique. Ce scénario est fréquemment désigné par le terme de protocole de test standard à deux niveaux (TSDN). Des études récentes (17, 18, 19) ont démontré que l'utilisation d'un deuxième test ELISA à la place de l'immunotransfert sur *Borrelia* pouvait constituer un protocole de test modifié à deux niveaux (TMDN) dont les performances sont comparables au protocole TSDN.

PRINCIPE DU TEST

L'Anti-*B. burgdorferi* IgG est conçu pour détecter les anticorps de classe IgG dirigés contre *B. burgdorferi* dans le sérum humain. Les puits sensibilisés se trouvant dans des bandes de micropuits en plastique sont préparés par adsorption passive avec un antigène de cellule entière de *Borrelia burgdorferi*. La procédure du test comprend trois étapes d'incubation :

1. Les sérums à examiner (correctement dilués) sont mis en incubation dans des micropuits recouverts d'antigènes. Tout anticorps spécifique de l'antigène présent dans l'échantillon se liera à l'antigène immobilisé. La plaque est lavée afin de retirer tous les antigènes non liés et les autres composants du sérum.
2. Des anticorps de chèvre dirigés contre les IgG humaines (spécifiques du fragment Fc) et conjugués à la peroxydase sont ajoutés aux puits et la plaque est mise en incubation. Le conjugué réagira avec les anticorps IgG immobilisés sur la phase solide au cours de l'étape 1. Les puits sont lavés pour retirer le conjugué n'ayant pas réagi.
3. Les micropuits contenant le conjugué-peroxydase immobilisé sont mis en incubation avec une solution de substrat de peroxydase. L'hydrolyse du substrat par la peroxydase produit un changement de couleur. Après un certain temps, la réaction est interrompue, et l'intensité de la couleur de la solution est mesurée par photométrie. L'intensité de la couleur de la solution dépend de la concentration d'anticorps de l'échantillon original à examiner.

COMPOSANTS DU SYSTÈME DE TEST

Matériel fourni :

Chaque système de test contient les composants suivants en quantité suffisante pour réaliser le nombre de tests indiqué sur l'étiquette du conditionnement. **REMARQUE :** les composants suivants contiennent de l'azote de sodium comme conservateur à une concentration < 0,1 % (P/V) : contrôles, étalonneur et diluant d'échantillon.

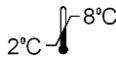
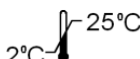
Composant du kit	Quantité 	Description
PLATE	1	Plaque : 96 puits disposés en 12 bandes de 8 puits recouverts d'antigène inactivé de <i>B. burgdorferi</i> (souche B31). Les bandes sont conditionnées dans un support de bandes et scellées dans une enveloppe contenant un agent dessiccateur.
CONJ	1	Conjugué : anticorps de chèvre anti-IgG humaines conjugués (peroxydase de raifort). Un flacon à bouchon blanc de 15 ml. Prêt à l'emploi.
CTRL +	1	Contrôle positif (sérum humain) : ampoule de 0,35 ml à bouchon rouge . Concentré 21X.
CAL	1	Étalonneur (sérum humain) : ampoule de 0,5 ml à bouchon bleu . Concentré 21X.
CTRL -	1	Contrôle négatif (sérum humain) : ampoule de 0,35 ml à bouchon vert . Concentré 21X.
DIL SPE	1	Diluant d'échantillon : flacon de 30 ml à bouchon vert, contenant du Tween-20, de la sérum-albumine bovine et une solution saline tamponnée au phosphate. Solution verte. Prêt à l'emploi.
SOLN TMB	1	TMB : flacon ambré à bouchon ambré de 15 ml contenant de la 3, 3', 5, 5' - tétraméthylbenzidine (TMB). Prêt à l'emploi.
SOLN STOP	1	Solution d'arrêt : flacon de 15 ml à bouchon rouge, contenant 1 M de H ₂ SO ₄ , 0,7 M de HCl. Prêt à l'emploi.
WASH 10X	1	Concentré de tampon de lavage (10X) : diluer une partie de concentré + 9 parties d'eau désionisée ou distillée. Flacon de 100 ml à bouchon translucide, contenant un concentré 10X de solution saline tamponnée au phosphate et de Tween-20 (solution bleue). REMARQUE: la solution 1X aura un pH de 7,2 ± 0,2.

REMARQUE : Les composants suivants ne dépendent pas du numéro de lot du système de test, et peuvent être utilisés indifféremment avec tous les systèmes de test ZEUS ELISA : TMB, solution d'arrêt et tampon de lavage.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Lecteur de micropuits ELISA pouvant lire une longueur d'onde 450 nm. **REMARQUE : il est possible d'utiliser un lecteur à longueur d'onde unique (450 nm) ou à longueur d'onde double (450/620 – 650 nm). L'utilisation d'un lecteur à longueur d'onde double est préférable, puisqu'il a été établi que le filtre de référence supplémentaire réduisait l'interférence potentielle provenant d'anomalies susceptibles d'absorber la lumière.**
2. Pipettes en mesure de délivrer exactement des quantités de 10 à 200 µl.
3. Pipette multicanal en mesure de délivrer exactement des quantités de 50 à 200 µl.
4. Réservoirs de réactifs pour pipettes multicanaux.
5. Flacon de lavage ou système de lavage des micropuits.
6. Eau distillée ou désionisée.
7. Récipient gradué d'un litre.
8. Pipettes sérologiques.
9. Embouts de pipettes jetables.
10. Serviettes en papier.
11. Minuterie de laboratoire pour mesurer les étapes d'incubation.
12. Bassine pour produits à éliminer ou pour désinfectant (c'est-à-dire, eau de Javel domestique à 10 % – hypochlorite de sodium à 0,5 %).

CONDITIONS DE CONSERVATION

	Bande de micropuits avec revêtement : refermer immédiatement de façon hermétique les bandes non utilisées avec l'agent dessiccant et les replacer dans des conditions de conservation appropriée. Après ouverture – les bandes sont stables pendant 60 jours, pour autant que le papier indicateur sur les sachets de dessiccant reste bleu.
	Conjugué – NE PAS CONGELER.
	Système de test non ouvert, étalonneur, contrôle positif, contrôle négatif, TMB, diluant d'échantillon
	Solution d'arrêt : 2 – 25°C Tampon de lavage (1X) : 20 – 25°C pendant un maximum de sept jours, 2-8°C pendant 30 jours Tampon de lavage (10X) : 2 – 25°C

PRÉCAUTIONS

1. Pour utilisation diagnostique *in vitro* uniquement.
2. Observer les précautions normalement applicables lors de toute manipulation de réactifs de laboratoire. En cas de contact oculaire, rincer immédiatement les yeux avec beaucoup d'eau et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés, ainsi que des gants et une protection des yeux/du visage. Ne pas respirer les vapeurs de ce produit. Éliminer les déchets conformément à toutes les lois applicables.
3. Les puits de la plaque ELISA ne contiennent pas d'organismes viables. Cependant, les bandes doivent être considérées comme du **matériel potentiellement contaminé** et être manipulées en conséquence.
4. Les contrôles contiennent du **matériel potentiellement contaminé**. Les matériaux d'origine de ces produits ont fait l'objet de tests approuvés n'ayant révélé aucune présence d'antigène du VIH-1, de HBsAg ni d'anticorps contre le VHC et le VIH. Cependant, puisque aucune méthode de test n'offre une garantie absolue d'absence de tout agent infectieux, ces produits doivent être manipulés selon les consignes du niveau 2 de biosécurité, conformément aux recommandations applicables aux échantillons de sang et aux sérums humains potentiellement infectieux contenues dans le manuel des Centers for Disease Control/National Institutes of Health intitulé : « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories » (Biosécurité dans les laboratoires microbiologiques et biomédicaux), dernière édition, et conformément aux normes de l'OSHA concernant les agents pathogènes sanguins (5).
5. Pour obtenir des résultats précis, il est essentiel de respecter les durées et les températures d'incubation. **S'assurer que tous les réactifs sont équilibrés à température ambiante (20 – 25 °C) avant de commencer le test.** Ramener les réactifs inutilisés à une température réfrigérée immédiatement après utilisation.
6. Un mauvais lavage peut causer de faux résultats positifs ou négatifs. Avant d'ajouter le conjugué ou le substrat, s'assurer de minimiser la quantité de solution de lavage résiduelle (p. ex., par buvardage ou aspiration) Ne pas laisser les puits sécher entre les incubations.
7. Le diluant d'échantillon, les contrôles et l'étalonneur contiennent de l'azote de sodium à une concentration inférieure à 0,1 % (P/V). Il a été indiqué que l'azote de sodium formait des azotures de plomb ou de cuivre dans les tuyauteries des laboratoires, susceptibles de provoquer des explosions en cas de martelage. Pour éviter ce risque, rincer abondamment les éviers avec beaucoup d'eau après y avoir jeté une solution contenant de l'azote de sodium.

8. La solution d'arrêt est TOXIQUE en cas d'inhalation, de contact avec la peau ou de déglutition. Elle peut provoquer des brûlures. En cas d'accident ou de malaise, consulter un médecin immédiatement.
9. La solution de TMB est NOCIVE. Ce produit est irritant pour les yeux, le système respiratoire et la peau.
10. Le concentré de tampon de lavage est IRRITANT. Ce produit est irritant pour les yeux, le système respiratoire et la peau.
11. Essuyer la plaque afin d'éliminer tout liquide résiduel et/ou toute empreinte digitale qui pourraient altérer les lectures de densité optique (DO).
12. La dilution et l'adultération de ces réactifs peuvent produire des résultats erronés.
13. Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres sources ou d'autres fabricants.
14. La solution de TMB doit être incolore, jaune très pâle, vert très pâle ou bleu très pâle lors de son utilisation. La contamination de la TMB avec le conjugué ou d'autres oxydants entraînera un changement prématuré de la couleur de la solution. Ne pas utiliser la TMB si sa couleur est nettement bleue.
15. Ne jamais pipeter à la bouche. Éviter tout contact de la peau ou des muqueuses avec des réactifs ou des échantillons humains.
16. Éviter toute contamination microbienne des réactifs sous peine d'obtenir des résultats incorrects.
17. Une contamination croisée des réactifs et/ou des échantillons peut entraîner des résultats erronés.
18. Les récipients en verre réutilisables doivent être lavés et abondamment rincés de façon à enlever tout résidu de détergent.
19. Éviter les éclaboussures et la génération d'aérosols.
20. Ne pas exposer les réactifs à une lumière puissante durant leur conservation ou durant une incubation.
21. Laisser les bandes de micropuits et le support atteindre la température ambiante avant ouverture. L'enveloppe protectrice protégera les puits d'une condensation.
22. Récupérer la solution de lavage dans une bassine jetable. Traiter la solution usagée avec un désinfectant (p. ex. eau de Javel domestique à 10 % – hypochlorite de sodium à 0,5 %). Éviter d'exposer les réactifs aux vapeurs d'eau de Javel.
23. Avertissement : neutraliser les résidus liquides présentant un pH acide avant d'ajouter l'eau de Javel.
24. Ne pas utiliser les plaques ELISA si la couleur du papier indicateur sur le sachet de l'agent dessiccateur a changé du bleu ou rose.
25. Ne pas laisser le conjugué entrer en contact avec des récipients ou des instruments qui ont contenu précédemment une solution utilisant l'azoture de sodium comme conservateur. Les quantités résiduelles d'azoture de sodium peuvent détruire l'activité enzymatique du conjugué.
26. Ne pas exposer les réactifs à des solutions contenant de l'eau de Javel ni même aux odeurs fortes s'échappant d'une solution contenant de l'eau de Javel. De très petites quantités d'eau de Javel (hypochlorite de sodium) peuvent détruire l'activité biologique de nombreux réactifs faisant partie de ce système de test.

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

1. ZEUS Scientific recommande que l'utilisateur prélève les échantillons conformément au document M29 du CLSI intitulé « Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (Current Edition) » (Protection des employés de laboratoire contre les maladies infectieuses, dernière édition).
2. Aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie totale qu'un échantillon de sang humain ne causera aucune transmission d'infection. Par conséquent, il est nécessaire de considérer tous les dérivés d'échantillons sanguins comme potentiellement infectieux.
3. Utiliser uniquement du sérum sanguin fraîchement prélevé et correctement réfrigéré, prélevé selon la procédure de ponction veineuse aseptique approuvée pour ce test (6, 7). Ne pas utiliser les échantillons comprenant des anticoagulants ou des conservateurs ajoutés. Éviter d'utiliser du sérum hémolysé, lipémique ou ayant été contaminé par des bactéries. Il est de la responsabilité des laboratoires de consulter tous les documents de référence disponibles et/ou leurs propres études afin de déterminer les critères de stabilité appropriés pour leur laboratoire (16).
4. Les échantillons peuvent être conservés à température ambiante pendant un maximum de 8 heures. Si aucun test n'est effectué dans un délai de 8 heures, le sérum sanguin peut être stocké entre 2 et 8 °C pendant un maximum de 10 jours. Si la réalisation du test est retardée, le sérum sanguin peut être conservé à -20 °C ou moins. Éviter les cycles multiples de congélation/décongélation, qui peuvent causer une perte d'activité des anticorps et produire des résultats erronés.

PROCÉDURE DU TEST

1. Retirer les composants individuels de leur lieu de conservation et les laisser se réchauffer à température ambiante (20 - 25°C).
2. Déterminer le nombre nécessaire de micropuits. Prévoir six déterminations de contrôle/étalonneur (un blanc réactif, un contrôle négatif, trois étalonneurs et un contrôle positif) par session. Tester un blanc réactif lors de chaque dosage. Vérifier les exigences du logiciel et du lecteur concernant les configurations correctes des contrôles et de l'étalonneur. Remettre les bandes inutilisées dans le sachet refermable avec l'agent dessiccateur, fermer celui-ci hermétiquement et le placer dans un lieu de conservation entre 2 et 8 °C.

EXEMPLE DE CONFIGURATION DE PLAQUE		
	1	2
A	Blanc	Patient 3
B	Contrôle négatif	Patient 4
C	Étalonneur	etc.

D	Étalonneur	
E	Étalonneur	
F	Contrôle positif	
G	Patient 1	
H	Patient 2	

3. Préparer une dilution au 1/21e (p. ex., 10 µl de sérum + 200 µl de diluant d'échantillon) de contrôle négatif, d'étalonneur, de contrôle positif et de chaque sérum de patient.
4. Dans les puits individuels, ajouter 100 µl de chacun des éléments suivants : contrôle dilué, étalonneur et échantillon de patient. S'assurer que les échantillons sont correctement mélangés. Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon.
5. Ajouter 100 µl de diluant d'échantillon au puits A1 comme blanc réactif. Vérifier les exigences du logiciel et du lecteur concernant la configuration correcte du puits du blanc réactif.
6. Incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C) pendant 25 ± 5 minutes.
7. Laver les bandes de micropuits à cinq reprises.
 - a. **Procédure de lavage manuel :**
 1. Agiter vigoureusement pour faire sortir le liquide des puits.
 2. Remplir chaque micropuits avec le tampon de lavage. S'assurer qu'aucune bulle d'air n'est piégée dans les puits.
 3. Répéter les étapes 1 et 2 pour effectuer un total de cinq lavages.
 4. Agiter pour faire sortir la solution de lavage de tous les puits. Retourner la plaque sur une serviette en papier et tapoter fermement pour retirer tout reste de solution de lavage se trouvant dans les puits. Inspecter visuellement la plaque pour s'assurer qu'il ne reste pas de solution de lavage. Recueillir la solution de lavage dans une bassine pour produits à éliminer et traiter avec un désinfectant à la fin des procédures de la journée.
 - b. **Procédure de lavage automatisé :**
 En cas d'utilisation d'un système de lavage de micropuits automatisé, régler le volume de distribution à 300–350 µl par puits. Régler le cycle de lavage à cinq lavages, sans intervalle entre les lavages. Le cas échéant, il est possible de retirer la plaque de micropuits du laveur, de la retourner sur une serviette de papier et de la tapoter fermement pour retirer tout reste de solution de lavage se trouvant dans les micropuits.
8. Ajouter 100 µl de conjugué dans chaque puits, y compris le puits du blanc réactif, à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons.
9. Incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C) pendant 25 ± 5 minutes.
10. Laver les micropuits en suivant la procédure décrite dans l'étape 7.
11. Ajouter 100 µl de TMB dans chaque puits, y compris le puits du blanc réactif, à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons.
12. Incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C) pendant 10 à 15 minutes.
13. Interrompre la réaction en ajoutant 50 µl de solution d'arrêt dans chaque puits, y compris le puits du blanc réactif, à la même vitesse et dans le même ordre que pour la TMB. La couleur des échantillons positifs passera du bleu au jaune. Après avoir ajouté la solution d'arrêt, tapoter la plaque plusieurs fois pour s'assurer que les échantillons sont parfaitement mélangés.
14. Régler le lecteur de micropuits afin que la lecture s'effectue à longueur d'onde 450 nm, et mesurer la densité optique (DO) de chaque puits par rapport au blanc réactif. Lire la plaque dans un délai de 30 minutes après l'addition de la solution d'arrêt.

RÉSUMÉ DE LA PROCÉDURE DE TEST

1. Diluer le sérum au 1/21e.
2. Ajouter l'échantillon dilué au micropuits – 100 µl/puits.
3. —————→ *Incuber pendant 25 ± 5 minutes.*
4. Laver.
- Ajouter le conjugué – 100 µl/puits.
6. —————→ *Incuber pendant 25 ± 5 minutes.*
7. Laver.
8. Ajouter la TMB – 100 µl/puits.
9. —————→ *Incuber pendant 10 à 15 minutes.*
10. Ajouter la solution d'arrêt – 50 µl/puits – Mélanger.
11. LIRE dans un délai de 30 minutes.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

1. À chaque fois que le dosage est réalisé, l'étalonneur doit être dosé à trois reprises. Un blanc réactif, un contrôle négatif et un contrôle positif doivent également être inclus.
2. Calculer la moyenne des trois puits d'étalonneur. Si l'une des trois valeurs s'écarte de plus de 15 % de la moyenne, éliminer cette valeur et calculer la moyenne en utilisant les deux puits restants.
3. Les valeurs moyennes de la DO pour l'étalonneur, le contrôle positif et le contrôle négatif doivent être incluses dans les intervalles suivants :

	<u>Intervalle de la DO</u>
Contrôle négatif	$\leq 0,250$
Étalonneur	$\geq 0,300$
Contrôle positif	$\geq 0,500$

- La DO du contrôle négatif divisée par la DO moyenne de l'étalonneur doit être $\leq 0,9$.
 - La DO du contrôle positif divisée par la DO moyenne de l'étalonneur doit être $\geq 1,25$.
 - Si les conditions ci-dessus ne sont pas satisfaites, le test doit être considéré comme non valide et doit être répété.
- Le contrôle positif et le contrôle négatif sont destinés à vérifier l'absence de toute anomalie substantielle des réactifs, mais ne garantissent pas la précision au seuil du dosage.
 - Des contrôles supplémentaires peuvent être testés conformément aux réglementations gouvernementales en vigueur et aux normes des organisations d'accréditation compétentes.
 - Se référer au document C24 du CLSI : Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures (Contrôle qualité statistique pour les procédures de mesure quantitatives) pour des recommandations sur les pratiques de contrôle qualité appropriées.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. Calculs :

- Facteur de correction** : le fabricant a déterminé une valeur seuil de la DO pour les échantillons positifs et l'a corrélée à l'étalonneur. Le facteur de correction (FC) permet la détermination de la valeur seuil pour les échantillons positifs. Il permet également de corriger les légères variations des résultats de tests observées d'un jour à l'autre. Le facteur de correction est déterminé pour chaque lot de composants et imprimé sur l'étiquette des composants située sur la boîte du système de test.
- Valeur seuil de la DO** : pour obtenir la valeur seuil de la DO, multiplier le FC par la valeur moyenne de la DO de l'étalonneur déterminée ci-dessus ($FC \times DO \text{ moyenne de l'étalonneur} = \text{Valeur seuil de la DO}$).
- Rapports valeur d'indice/DO** : calculer le rapport valeur d'indice/DO pour chaque échantillon en divisant sa valeur de DO par la valeur seuil de la DO obtenue à l'étape b.

Exemple :

DO moyenne de l'étalonneur	=	0,793
Facteur de correction (FC)	=	0,25
DO seuil	=	$0,793 \times 0,25 = 0,198$
DO de l'échantillon inconnu	=	0,432
Rapport valeur d'indice/DO de l'échantillon	=	$0,432 / 0,198 = 2,18$

- Interprétations** : les rapports valeur d'indice/DO sont interprétés de la façon suivante.

	<u>Rapport valeur d'indice/DO</u>
Échantillons négatifs	$\leq 0,90$
Échantillons douteux	0,91 à 1,09
Échantillons positifs	$\geq 1,10$

- Un rapport de $DO \leq 0,90$ indique qu'il n'a pas été détecté de quantité significative d'IgG dirigées contre *B. burgdorferi*. Si une exposition à *B. burgdorferi* est suspectée, un deuxième échantillon doit être collecté et testé deux à quatre semaines plus tard (15).
 - Un rapport de $DO \geq 1,10$ indique que des anticorps spécifiques dirigés contre *B. burgdorferi* ont été détectés. Ce résultat constitue une preuve présumée d'exposition probable. Conformément aux recommandations actuelles, le résultat ne peut pas être interprété de manière plus approfondie sans qu'un Western blot supplémentaire n'ait été effectué. Les dosages par Western blot des anticorps dirigés contre *B. burgdorferi* sont effectués de manière complémentaire et non confirmative, dans la mesure où leur spécificité n'est pas optimale, en particulier pour la détection des IgM. Ne pas rapporter les résultats avant qu'un test supplémentaire n'ait été effectué.
 - Les échantillons dont les valeurs de rapport de DO se situent dans l'intervalle douteux (0,91-1,09) doivent être à nouveau testés. Rapporter les deux résultats des trois qui concordent. Évaluer à nouveau un échantillon douteux en effectuant un test de deuxième étape (mise en évidence des IgG et/ou des IgM par Western blot).
- Utilisation et interprétation de la détection d'anticorps IgG par TMDN (2-EIA) :**
Ce test peut être utilisé comme immunodosage de premier niveau dans le cadre d'une procédure standard à deux niveaux (TSDN), mais également comme dosage de deuxième niveau dans le protocole modifié à deux niveaux (TMDN) ou 2-EIA de la façon suivante.
 - Les échantillons doivent tout d'abord être testés avec l'Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM.
 - Tous les échantillons positifs et douteux doivent à nouveau être testés avec cet Anti-*B. burgdorferi* IgG.

- c. Les résultats positifs et douteux obtenus avec le deuxième EIA doivent être considérés comme positifs et interprétés comme une preuve de la présence d'anticorps IgG et d'une exposition à *B. burgdorferi*.

LIMITES DU TEST

1. L'étude sur le protocole TMDN a été réalisée en utilisant l'Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM comme dosage de premier niveau et l'Anti-B. burgdorferi IgG comme dosage de second niveau, les tests ayant été réalisés dans cet ordre. Les performances du dispositif ne sont pas établies si l'ordre des tests est changé ou si d'autres dosages EIA sont substitués dans le cadre de la procédure TMDN (2-EIA).
2. Les sérums de patients présentant d'autres maladies spirochétales (syphilis, pian, pinta, leptospirose et fièvre récurrente) ou une mononucléose infectieuse et un lupus érythémateux disséminé peuvent donner des résultats faux positifs (8, 9). Dans les cas où des réactions faussement positives sont observées, une étude d'épidémiologie clinique approfondie et des examens de laboratoire doivent être réalisés afin d'établir le diagnostic spécifique. Les sérums faux positifs provenant de patients présentant une syphilis peuvent être identifiés par la réalisation d'un test de détection à la réagine plasmatique (RPR) et d'un dosage d'anticorps anti-tréponémiques sur ces échantillons (10). Les sérums vrais positifs contre *B. burgdorferi* seront négatifs avec ces dosages.
3. Des résultats faux négatifs peuvent être obtenus si les échantillons de sérum sont prélevés trop précocement après le déclenchement de la maladie, avant que les concentrations d'anticorps n'aient atteint des niveaux significatifs (8). De même, un traitement antibiotique précoce peut interrompre une production d'anticorps dirigés contre le spirochète (11).
4. Toutes les données doivent être interprétées simultanément aux symptômes cliniques de la maladie, aux données épidémiologiques, à l'exposition dans des zones endémiques et aux résultats d'autres examens biologiques.
5. Ne pas utiliser ce test comme dépistage dans la population générale. La valeur prédictive positive dépend de la probabilité d'une infection avant le test. Le test ne doit être effectué que si des symptômes cliniques sont présents ou si une exposition est suspectée.
6. Les performances de l'Anti-B. burgdorferi IgG ne sont pas établies avec des échantillons prélevés chez des personnes vaccinées avec des antigènes de *B. burgdorferi*.

RÉSULTATS ATTENDUS

Seulement 10 à 40 % des patients présentant un EM seul présentent des niveaux détectables d'anticorps dirigés contre *B. burgdorferi* (1, 12 et 13). La synthèse d'IgM atteint généralement un pic entre trois et six semaines après l'infection, et elle n'est souvent détectable qu'au cours des deux premières semaines de l'infection. La synthèse d'anticorps IgG n'est souvent pas détectable pendant quatre à six semaines après l'infection. Un tableau sérologique plus complet peut être obtenu en testant des sérums en phase aiguë et en phase de convalescence. La plupart des patients (94 à 97 %) présentant des complications neurologiques, et principalement tous les patients présentant une arthrite, montrent des titres élevés d'IgG dirigés contre le spirochète (12, 14). Au cours des phases tardives, un test d'anticorps positif peut contribuer à distinguer une maladie de Lyme d'une méningite virale ou de paralysies nerveuses non expliquées. Un test d'anticorps positif peut être particulièrement utile pour différencier une arthrite due à une maladie de Lyme d'une polyarthrite rhumatoïde, d'une polyarthrite juvénile ou d'un syndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter (11). Les patients ne présentant ni signe ni caractéristique clinique de maladie de Lyme doivent présenter un résultat négatif avec l'Anti-B. burgdorferi IgG.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

1. Études comparatives :

L'Anti-B. burgdorferi IgG a été comparé à une procédure de test par immunofluorescence indirecte (indirect fluorescent antibody, IFA) disponible dans le commerce pour la détection des anticorps IgG dirigés contre *B. burgdorferi*. Deux cent sept (207) échantillons de sérum ont été testés par les deux procédures. Les résultats de cette étude sont récapitulés dans le Tableau 1.

Tableau 1 :

		Procédure d'IFA B. burgdorferi	
		Positif	Négatif
Anti-B. burgdorferi IgG	Positif	54	12
	Négatif	2	133
	Douteux *	1	5

Sensibilité relative = 96,4 % (54/56)

Spécificité relative = 91,7 % (133/145)

Concordance = 93,0 % (187/201)

concordance.

* Les échantillons douteux ont été exclus des calculs de sensibilité, de spécificité et de

Le Tableau 2 montre les résultats des tests obtenus en utilisant un ensemble de sérums provenant des Centres de contrôle et de prévention des maladies (Centers for Disease Control and Prevention, CDC). Les résultats sont présentés afin de fournir des informations complémentaires sur les performances de ce dosage utilisé dans un groupe de sérums caractérisés masqués. Cela ne signifie pas que le dosage a été validé par les CDC.

Tableau 2 : Groupe de sérums des CDC provenant de patients présentant une infection à *B. burgdorferi* stratifiés par délai depuis le début de la maladie

Délai depuis le début	Positif	Douteux	Négatif	Total	% de concordance avec le diagnostic clinique
Normaux	0	0	5	5	100
< 1 mois	1	1	4	6	20
1 - 2 mois	2	1	5	8	28
3 - 12 mois	8	3	9	20	47
> 1 an	8	0	0	8	100
Total	19	5	23	47	57

2. Précision et reproductibilité :

Pour évaluer les variations intra-dosage et inter-dosage de la procédure de test, sept échantillons de sérum, négatifs à hautement positifs, ont été testés par l'Anti-B. burgdorferi IgG. Huit répliqués de chaque échantillon ont été testés pendant trois jours consécutifs. Le rapport de DO moyenne et le coefficient de variation (CV) ont été calculés pour chaque échantillon. Ces données sont présentées ci-dessous.

Tableau 3 :

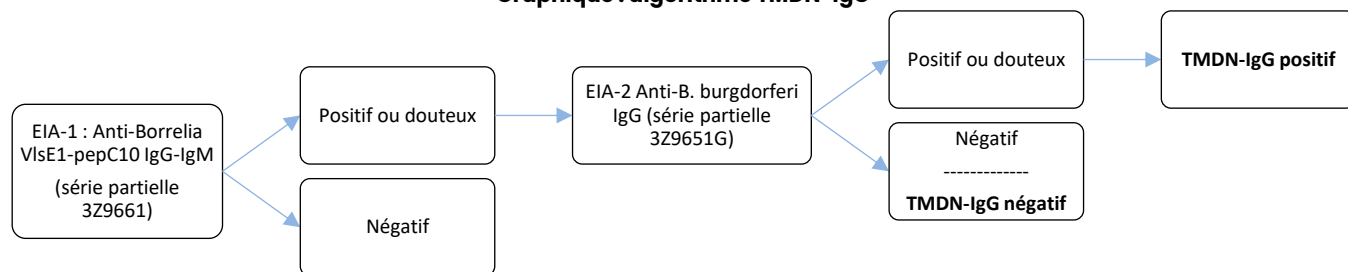
Nombre d'échantillons	Intra-dosage (n = 8)						Inter-dosage (n = 3)	
	Jour 1		Jour 2		Jour 3		Rapport moyen	% CV
1	Rapport moyen	% CV	Rapport moyen	% CV	Rapport moyen	% CV	Rapport moyen	% CV
1	1,75	8,2	1,76	6,0	1,50	9,6	1,67	7,2
2	1,22	3,9	1,21	6,5	1,12	3,4	1,18	3,8
3	4,25	2,8	4,30	6,7	3,84	2,1	4,13	5,0
4	2,73	3,5	3,14	2,1	2,53	4,1	2,80	9,1
5	2,69	2,5	2,97	7,1	2,64	4,3	2,77	15,2
6	0,49	5,5	0,60	5,1	0,59	8,1	0,56	8,9
7	0,35	7,4	0,43	2,1	0,39	8,1	0,39	8,4

3. Caractéristiques de performance du protocole TMDN (2-EIA)

Les études suivantes ont été menées afin de déterminer les performances de l'Anti-B. burgdorferi IgG comme dosage de deuxième niveau dans le protocole de test modifié à deux niveaux (TMDN) ou 2-EIA.

- a. **Comparaison de la méthode TMDN-IgG :** l'Anti-B. burgdorferi IgG a été utilisé comme dosage de deuxième niveau dans un protocole de TMDN comme l'indique le schéma ci-dessous. L'EIA utilisé dans le premier niveau a été le Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM. Les performances du protocole TMDN-IgG vs TSDN ont été évaluées en utilisant deux cohortes séparées ; une cohorte rétrospective et une cohorte prospective.

Graphique : algorithme TMDN-IgG



- b. **Cohorte rétrospective :** la cohorte rétrospective de 356 échantillons a été composée d'un groupe de précommercialisation des Centres de contrôle et de prévention des maladies (CDC) comprenant 280 membres, qui a été complété par 46 échantillons supplémentaires présentant une maladie de Lyme (ML) de stade 2 et de 30 échantillons présentant une ML de stade 3. Par conséquent, le groupe rétrospectif a été composé de 166 cas de ML (60 stade 1, 56 stade 2 et 50 stade 3), de 90 échantillons présentant d'autres maladies que la ML et de 100 contrôles sains (50 endémiques et 50 non endémiques).

Initialement, les 356 échantillons rétrospectifs ont été testés avec le dosage de premier niveau, l'Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM. Il a été obtenu 160 résultats positifs et 6 résultats douteux. Dans le protocole TSDN-IgG, les échantillons qui ont été positifs ou douteux (n = 166) ont été testés par Western blot vis-à-vis des IgG anti-B. burgdorferi. Dans le protocole TMDN-IgG, les échantillons (n = 166) ont été testés avec un deuxième EIA, l'Anti-B. burgdorferi IgG. Les résultats positifs et douteux des tests immuno-enzymatiques de second niveau ont été considérés comme positifs. Les résultats douteux et positifs ont été ajoutés les uns aux autres, et les résultats ont été comparés aux résultats positifs obtenus avec le protocole TSDN-IgG. Le Tableau 4 montre les résultats du protocole TMDN-IgG par rapport au protocole TSDN-IgG.

Tableau 4 : Comparaison des résultats des protocoles TMDN-IgG et TSDN (IgG) dans une cohorte rétrospective

	Stade I (n = 60)		Stade II (n = 56)		Stade III (n = 50)		Contrôles sains (n = 100)		Contrôles pathologiques (n = 90)	
	TSDN-IgG	TMDN-IgG	TSDN-IgG	TMDN-IgG	TSDN-IgG	TMDN-IgG	TSDN-IgG	TMDN-IgG	TSDN-IgG	TMDN-IgG
Positif	19	36	24	35	50	50	0	0	0	0
Négatif	41	24	32	21	0	0	100	100	90	90
Sensibilité ou PCP	31,7 %	60,0 %	42,9 %	62,5 %	100 %	100 %	s/o	s/o	s/o	s/o
Spécificité ou PCN	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o	s/o	100 %	100 %	100 %	100 %

- c. **Étude de cohorte prospective** : il a été constitué une cohorte prospective d'échantillons de sérum envoyés à un laboratoire pour une sérologie *Borrelia* de routine. Ces échantillons ont été collectés dans trois localisations géographiques différentes des États-Unis, toutes étant des zones endémiques pour la ML. Deux des trois sites (Massachusetts et Minnesota) ont collecté les échantillons et effectué le test ELISA respectif. Un site (Wisconsin) a collecté les échantillons et les a envoyés au fabricant pour la réalisation du test ELISA respectif. Les trois sites et leurs nombres correspondants d'échantillons sont récapitulés dans le Tableau 5 ci-dessous.

Tableau 5 : Résumé de la cohorte d'échantillons prospectifs

Localisation géographique	Taille de l'échantillon (n)
Massachusetts	900
Wisconsin	990
Minnesota	1 042
Total	2 932

Initialement, les 2 932 échantillons prospectifs ont été testés avec le dosage de premier niveau, l'Anti-Borrelia VlsE1-pepC10 IgG/IgM. Il a été obtenu 363 résultats positifs et 58 résultats douteux. Dans le protocole TSDN, les échantillons positifs ou douteux (n = 421) sont testés par Western blot vis-à-vis des IgG anti-*B. burgdorferi*. Dans le protocole TMDN-IgG, les échantillons (n = 421) ont été testés avec un deuxième ELISA, l'Anti-*B. burgdorferi* IgG. Les résultats positifs et douteux des tests immuno-enzymatiques de second niveau ont été considérés comme positifs. Les résultats douteux et positifs ont été ajoutés les uns aux autres, et les résultats ont été comparés aux résultats positifs obtenus avec le test standard à deux niveaux (TSDN). Un résumé des résultats obtenus avec le protocole TSDN (IgG) vs TMDN-IgG est présenté dans le Tableau 6 ci-dessous :

Tableau 6 : protocole TMDN-IgG comparé au protocole TSDN (IgG) dans la cohorte prospective

		TSDN (IgG)		
		Positif	Négatif	Total
TMDN-IgG	Positif	115	77**	192
	Négatif	10*	2 730	2 740
	Total	125	2 807	2 932

Concordance positive: 92,0 % (115/125) IC à 95 % : 85,9 – 95,6 %

Concordance négative: 97,3 % (2 730/2 807) IC à 95 % : 96,6 – 97,8 %

** Parmi les 10 échantillons positifs au protocole TSDN-IgG et négatifs au protocole TMDN-IgG, cinq échantillons ne disposaient d'aucune information clinique concordant avec une maladie de Lyme, un présentait des preuves d'une infection antérieure, trois disposaient d'informations cliniques conformes à une maladie de Lyme de stade I et aucune information clinique n'était disponible pour le dernier.

** Parmi les 77 échantillons positifs au protocole TMDN-IgG et négatifs au protocole TSDN-IgG, 24 échantillons ne disposaient d'aucune information clinique concordant avec une maladie de Lyme, trois présentaient des preuves d'une infection antérieure, deux disposaient d'informations cliniques conformes à une maladie de Lyme de stade I et aucune information clinique n'était disponible pour les 48 autres.

RÉFÉRENCES

1. Steere AC, Taylor E, Wilson ML, Levine JF, and Spielman A: Longitudinal assessment of the clinical and epidemiologic features of Lyme disease in a defined population. *J. Infect. Dis.* 154:295-300, 1986.
2. Rosenfeld MEA: Serodiagnosis of Lyme disease. *J. Clin. Microbiol.* 31:3090-3095, 1993.
3. Steere AC, Grodzicki RL, Kornblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorfer W, Schmid GP, Johnson E, and Marawista SE: The spirochetal etiology of Lyme disease. *New Engl. J. Med.* 308:733, 1983.
4. Bakken LL, Callister SM, Wand PJ, and Schell RF: Interlaboratory comparison of test results for detection of Lyme disease by 516 patients in the Wisconsin State Laboratory of Hygiene/College of American Pathologists Proficiency Testing Program. *J. Clin. Microbiol.* 35:537-543, 1997.
5. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens. Final Rule. *Fed. Register* 56:64175-64182, 1991.
6. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture - Second edition: Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
7. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
8. Russel H, Sampson JS, Schmid GP, Wilkinson HW, and Plikaytis B: Enzyme-linked immunosorbent assay and indirect immunofluorescence assay for Lyme disease. *J. Infect. Dis.* 149:465, 1984.
9. Magnarelli LA, Anderson JF, and Johnson RC: Cross-reactivity in serological tests for Lyme disease and other spirochetal infections. *J. Infect. Dis.* 156:183-188, 1987.
10. Hunter EF, Russell H, Farshy CE, *et al.*: Evaluation of sera from patients with Lyme disease in the fluorescent treponeme antibody-absorption test for syphilis. *Sex. Trans. Dis.* 13:236, 1986.
11. Steere AC, Hutchinson GJ, Rahn DW, Sigal LH, Craft JE, DeSanna ET, and Malawist SE: Treatment of the early manifestations of Lyme disease. *Ann. Intern. Med.* 99:22, 1983.
12. Craft JE, Grodzicki RL, Shrestha M, Fischer DK, Garcia-Bianco M, and Steere AC: Antibody response in Lyme disease. *Yale J. Biol. Med.* 57:561, 1984.
13. Shrestha M, Grodzicki RL, and Steere AC: Diagnosing early Lyme disease. *Am. J. Med.* 78:235, 1985.
14. Reik L, Smith L, Khan A, and Nelson W: Demyelinating encephalopathy in Lyme disease. *Neurology* 35:267, 1985.
15. Barbour A: Laboratory Aspects of Lyme Borreliosis. *Clin. Micr. Rev.* 1:399-414, 1988.
16. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines - 4th Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.
17. Branda JA, *et al.*: Two-Tiered Antibody Testing for Lyme Disease With Use of 2 Enzyme Immunoassays, a Whole-Cell Sonicate Enzyme Immunoassay Followed by a VlsE C6 Peptide Enzyme Immunoassay. *Clin Infect Dis* **2011**; 53:541-547.
18. Mollins CR, *et al.*: Lyme Boreliosis Serology: Performance of Several Commonly Used Laboratory Diagnostic Tests and a Large Resource Panel of Well Characterized Patient Specimens. *J Clin Microbiol* **2016**; 54:2726-2734.
19. Branda JA, *et al.*: Advances in Serodiagnostic Testing for Lyme Disease Are at Hand. *Clin Infect Dis* 2018 Mar 19;66(7):1133-1139

GLOSSAIRE DES SYMBOLES

Les symboles suivants peuvent avoir été utilisés dans l'étiquetage de ce produit.

Symbole	Description	Symbole	Description
	Fabricant		Tenir à l'écart de la lumière du soleil
IVD	Dispositif médical de diagnostic in vitro	PLATE	Plaque
REF	Numéro de catalogue	CONJ	Conjugué
	Suffisant pour n tests	CTRL +	Contrôle positif
LOT	Code du lot	CTRL -	Contrôle négatif
	Utilisation par	CAL	Étalonneur
	Limites de la température de stockage	DIL SPE	Diluant d'échantillon
CONT	Contenu	SOLN TMB	TMB
UDI	Identifiant unique de l'appareil	SOLN STOP	Solution d'arrêt
	Consultez les avertissements et les précautions	WASH 10X	Concentré de tampon de lavage (10X)
	Consulter le mode d'emploi électronique	FR	Français
	Stocker en position verticale	Made in the USA	Fabriqué aux États-Unis
RX Only	Applicable aux États-Unis : Produit de diagnostic in vitro sur ordonnance.		Corrosif
	Communication sur les dangers	EC REP	Représentant autorisé de la Commission Européenne
CE	Conformité avec la directive 98/79		



ZEUS Scientific

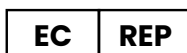
200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, USA

Toll Free (U.S.): 1-800-286-2111, Option 2

International: +1 908-526-3744

Fax: +1 908-526-2058

Website: www.zeusscientific.com



EMERGO EUROPE

Westervoortsedijk 60

6827 AT Arnhem

The Netherlands

Pour le service client américain, contactez votre distributeur local. Pour l'assistance technique aux États-Unis, contactez ZEUS Scientific, appelez le numéro gratuit ou envoyez un mail À l'adresse support@zeusscientific.com.

Pour le service client et l'assistance technique en dehors des États-Unis, veuillez contacter votre distributeur local.

©2025 ZEUS Scientific. Tous droits réservés.