

UTILISATION PRÉVUE

Le système de test ZEUS ELISA IgG VZV est un test ELISA conçu pour la détermination qualitative d'anticorps IgG dirigés contre le virus varicelle-zona (VZV) dans le sérum humain. Lorsque le test est utilisé conformément à ces instructions, ses résultats, associés aux renseignements cliniques, aident à la détermination du statut immunitaire, et/ou au diagnostic des infections par le virus VZV. Ce test a été conçu pour des diagnostics *in vitro*.

SIGNIFICATION ET CONTEXTE

Le virus varicelle-zona (VZV) est un pathogène courant chez les humains. L'évolution clinique du VZV chez l'homme entre généralement dans l'une ou l'autre des deux catégories suivantes : varicelle et herpès zostérien (zona). Les grands progrès significatifs qui permettent de mieux comprendre la nature de ces agents ont bénéficié de la contribution initiale de Weller et de ses collègues, qui ont démontré la méthode d'isolement et de propagation en série du virus (1, 2) et, plus récemment, l'épidémiologie et le contrôle (3). Des isolats du virus obtenus auprès de patients atteints de la varicelle et de zona se sont avérés identiques sur le plan de leur effet cytopathologique (1), de leur antigénicité (2) et de leur morphologie (4, 5). Plus près de nous, ces virus ont montré un ADN de poids moléculaire identique (6) et des motifs identiques d'endonucléase de restriction (7).

Les symptômes cliniques de la varicelle primaire incluent une période prodromique de maux de tête, malaise et fièvre précédant l'exanthème à moins qu'ils ne soient constitués par les éruptions caractéristiques. L'éruption est polymorphe et subit une évolution allant d'un stade maculaire à papuleux, puis vésiculaire. Cette éruption se développe de manière caractéristique par vagues successives de nouvelles lésions sur une période de 3 à 5 jours.

La varicelle est endémique aux États-Unis et elle affecte généralement les enfants scolarisés dans le primaire (5 à 8 ans). Les adultes, les adolescents et les nouveau-nés sont également susceptibles de contracter l'infection. La maladie apparaît par cycles de 2 à 5 ans, généralement l'hiver ou l'été, et elle peut atteindre des niveaux épidémiques. Les infections causées par la varicelle en début de grossesse ont rarement été liées à des anomalies congénitales. Les infections par le virus de la varicelle contractées par la femme enceinte au moment de l'accouchement peuvent produire une infection éventuellement mortelle chez le nouveau-né. Elles peuvent également s'avérer mortelles chez les patients atteints de diverses pathologies (8-10). La transmission potentielle d'une maladie nosocomiale n'est pas rare.

L'herpès zostérien (zona) est une maladie qui touche essentiellement les adultes, se produisant dans la plupart des cas chez les plus de 50 ans. Contrairement à la nature épidémique et saisonnière de la varicelle, l'herpès zostérien présente un schéma d'occurrence aléatoire. On pense que l'herpès zostérien correspond à la réactivation d'un virus préexistant de la varicelle qui se trouve à l'état latent depuis une primo-infection par la varicelle. L'herpès zostérien peut frapper même les personnes ayant des anticorps créés par une exposition antérieure au virus de la varicelle. Les personnes atteintes d'herpès zostérien présentent des zones érythémateuses et maculopapulaires qui se développent sur une zone cutanée desservie par un nerf afférent. Des vésicules, isolées ou regroupées, apparaissent ensuite, généralement accompagnées d'une douleur qui dans certains cas peut être extrême (11).

D'après le constat épidémiologique de la transmission du VZV par aéroportage et éventuellement par squames cutanées, on suppose que le virus pénètre par les voies respiratoires (12). Après dissémination du VZV à partir du sang, il atteint rapidement la peau et se dépiste dans l'endothélium, avant d'atteindre les cellules de l'épiderme avec accumulation de fluide entre la couche de Malpighi et l'épiderme externe pour former une vésicule (13). Cette vésicule devient le foyer d'une activité immunologique intense avec infiltration initiale de leucocytes polymorphonucléaires qui restent les cellules inflammatoires prédominantes, comme observé dans l'herpès zostérien (14). Par la suite, les cellules mononucléaires migrent dans la vésicule.

PRINCIPE DU TEST

Le système de test ZEUS ELISA IgG VZV est destiné à détecter les anticorps de classe IgG dirigés contre le virus VZV dans le sérum humain. Les puits des barrettes à micro-puits plastiques sont sensibilisés par une absorption passive d'antigène VZV. La procédure de test comprend trois étapes d'incubation :

1. Les échantillons de sérum sanguin du test (correctement dilués) sont incubés dans des micropuits enduits d'antigène. Tout anticorps spécifique de l'antigène se trouvant dans le sang s'accrochera à l'antigène immobilisé. La plaque est lavée de façon à enlever les anticorps non fixés et les autres composants sériques.
2. Des anticorps IgG antihumains d'origine caprine conjugués à de la peroxydase sont ajoutés dans les puits et la plaque est incubée. Le conjugué réagira avec les anticorps IgG immobilisés sur la phase solide de l'étape 1. Les puits sont lavés pour enlever le conjugué n'ayant pas réagi.
3. Les micropuits contenant du conjugué de peroxydase immobilisé sont incubés avec une solution de substrat peroxydase. L'hydrolyse du substrat avec de la peroxydase produit un changement de couleur. Après un certain temps, la réaction est arrêtée 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 dans l'échantillon d'origine.

COMPOSANTS DU SYSTÈME DE TEST

Matériel inclus :

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 agent de conservation sous une concentration inférieure à 0,1 % (volume d'eau) : contrôles, étalon et SAVE Diluent®.**

Composant			Description
PLATE	1	5	Plaque : 96 puits configurés en douze bandes de 8 puits, enduits d'antigène VZV inactivé (souche Ellen). Les bandes sont emballées dans un porte-bandes et placées avec du desséchant dans une enveloppe hermétiquement fermée.
CONJ	1	5	Conjugué : Solutions d'IgG antihumain d'origine caprine conjuguée à de la peroxydase de raifort (spécifique à la chaîne Fc), flacons de 15 ml à bouchon blanc. Prêt à l'emploi.
CONTROL +	1	2	Contrôle positif (sérum humain) : Ampoule(s) de 0,35 ml avec bouchon rouge.
CAL	1	4	Étalon (sérum humain) : Ampoule(s) de 0,5 ml avec bouchon bleu.
CONTROL -	1	2	Contrôle négatif (sérum humain) : Ampoule(s) de 0,35 ml avec bouchon vert.
DIL SPE	1	4	SAVE Diluent® : Flacon(s) de 30 ml à bouchon vert contenant du Tween-20, de l'albumine de sérum bovin et tampon phosphate salin. Prêt à l'emploi. REMARQUE : La solution SAVE Diluent® change de couleur lorsqu'elle est combinée à du sérum.
SOLN TMB	1	5	TMB : Flacon(s) de 15 ml à bouchon ambre contenant du tétraméthyl-3, 3', 5, 5'-benzidine (TMB). Prêt à l'emploi.
SOLN STOP	1	3	Solution d'arrêt : Flacon(s) de 15 ml à bouchon rouge contenant du 1M H ₂ SO ₄ , 0,7M HCl. Prêt à l'emploi.
WASHBUF 10X	1	5	Tampon de lavage concentré (10 x) : Dilution d'un volume de concentré dans neuf volumes d'eau distillée ou déionisée. Flacon(s) de 100 ml à bouchon transparent contenant une solution de Tween 20 et un tampon phosphate salin concentré 10 x (solution bleue). REMARQUE : La solution 1 x présente un pH de 7,2 ± 0,2.

REMARQUES :

1. Les composants suivants ne doivent pas nécessairement être utilisés avec des systèmes de test ayant un numéro de lot correspondant et peuvent donc être librement utilisés avec des systèmes de test ZEUS ELISA : TMB, solution d'arrêt et tampon de lavage. La solution SAVe Diluent® peut être interchangeable dans n'importe quel système de test ZEUS ELISA avec le produit n° 005CC.
2. Le système de test contient également une étiquette de composant contenant des informations spécifiques de lot à l'intérieur de la boîte du système de test.

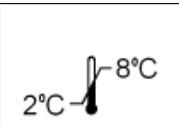
PRÉCAUTIONS

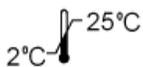
1. Pour utilisation diagnostique *in vitro* uniquement.
2. Observer les précautions normalement applicables lors de toute manipulation de réactif de laboratoire. En cas de contact oculaire, rincer immédiatement les yeux avec beaucoup d'eau et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés, ainsi que des gants et une protection des yeux/du visage. Ne pas respirer les vapeurs de ce produit. Jeter 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 des **matériaux biologiques dangereux** et être manipulées en conséquence.
4. Les solutions de contrôle sont des **matériaux biologiques dangereux**. 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 et d'anticorps contre le VHC et le VIH. Cependant, puisqu'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 dans le manuel des centres américains de contrôle des maladies intitulé « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories » (dernière édition) et conformément aux normes de l'OSHA concernant les agents pathogènes sanguins (18).
5. Pour obtenir des résultats exacts, il est essentiel de respecter les délais et les températures d'incubation. Vérifier que tous les réactifs sont équilibrés à température ambiante (20–25 °C) avant de commencer le test. Les réactifs non utilisés doivent être retournés à une température de réfrigération immédiatement après utilisation.
6. Un mauvais lavage peut causer de faux résultats positifs ou négatifs. S'assurer de minimiser la quantité de solution de lavage résiduelle (p. ex. par aspiration ou aspiration) avant d'ajouter le conjugué ou le substrat. Ne pas laisser les puits sécher entre les incubations.
7. La solution SAVe Diluent®, les solutions de contrôle et la solution étalon contiennent de l'azote de sodium sous une concentration inférieure à 0,1 % (volume d'eau). Il a été signalé que l'azote de sodium pouvait former des accumulations de plomb ou d'azote de cuivre dans la tuyauterie de laboratoire, lesquelles peuvent causer des explosions ou des détonations. 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. L'inhalation, l'ingestion et le simple contact cutané de la solution d'arrêt peuvent avoir des effets TOXIQUES, notamment des brûlures. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin.
9. La solution TMB est nocive. Ce produit peut irriter les yeux, le système respiratoire et la peau.
10. Le tampon de lavage concentré est IRRITANT. Ce produit peut irriter les yeux, le système respiratoire et la peau.
11. Essuyer le fond de la plaque de façon à enlever les empreintes digitales et les résidus de liquide pouvant fausser les mesures de densité optique.
12. La dilution et l'adultération de ces réactifs peuvent produire des résultats erronés.
13. Ne pas utiliser les réactifs d'autres vendeurs ou fabricants.
14. La solution TMB doit être incolore, jaune très pâle, vert très pâle ou bleu très pâle lors de son utilisation. Une contamination de la solution TMB avec du conjugué ou d'autres oxydants peut causer un changement de couleur prématuré. Ne pas utiliser la solution TMB si elle 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. Des résultats incorrects pourraient survenir.
17. Toute contamination des réactifs ou des échantillons pourrait fausser les résultats.
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 stockage ou durant une incubation.
21. Laisser les bandes de micropuits et le support arriver à température ambiante avant d'ouvrir l'enveloppe protectrice, afin de protéger les puits de toute condensation.
22. Récupérer la solution de lavage dans un bassin à résidus. Traiter la solution résiduelle avec un désinfectant (p. ex. 10 % de javel domestique à 0,5 % d'hypochlorite de sodium). Éviter d'exposer les réactifs aux vapeurs de javel.
23. Mise en garde : Avant d'ajouter une solution de javel, neutraliser les résidus liquides jusqu'à l'obtention d'un pH acide.
24. Ne jamais utiliser une plaque ELISA dont la bande indicatrice du sachet de déshydratant est passée du bleu au rose.
25. Ne pas laisser le conjugué entrer en contact avec des récipients ou des instruments pouvant avoir précédemment contenu une solution utilisant de l'azote de sodium comme agent de conservation. Des quantités résiduelles d'azote de sodium peuvent détruire l'activité enzymatique du conjugué.
26. Ne pas exposer les réactifs à des solutions contenant de la javel ni même aux odeurs fortes s'échappant d'une solution contenant de la javel. De très petites quantités de javel (hypochlorite de sodium) peuvent détruire l'activité biologique de plusieurs réactifs de ce système de test.

MATÉRIAUX NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

1. Lecteur de micropuits ELISA pouvant lire des mesures avec des longueurs d'ondes de 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 pouvant mesurer avec précision des quantités de 10 – 200 µl.
3. Pipette à canaux multiples pouvant mesurer avec précision des quantités de 50 – 200 µl.
4. Réservoirs de réactif pour pipettes à canaux multiples.
5. Flacon de lavage ou système de lavage de micropuits.
6. Eau distillée ou déionisée.
7. Cylindre 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. Bassin de résidus et de désinfectant (p. ex. 10 % de javel domestique à 0,5 % d'hypochlorite de sodium).

CONDITIONS DE STOCKAGE

	Bandes de micropuits avec revêtement : Reformer immédiatement de façon hermétique le sachet de bandes non utilisées en y laissant le déshydratant et replacer le sachet dans un environnement de stockage approprié. Après l'ouverture du sachet, les bandes demeurent stables pendant 60 jours, tant que les bandes indicatrices du sachet de déshydratant demeurent bleues.
	Conjugué – NE PAS CONGELER.
	Système de test non ouvert, étalon, contrôle positif, contrôle négatif, solution TMB, solution SAVe Dilent®



Solution d'arrêt : 2 - 25°C

Tampon de lavage (1 x) : 20 - 25°C pendant un maximum de 7 jours; 2 - 8 °C pendant un maximum de 30 jours.

Tampon de lavage (10 x) : 2 - 25°C

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

1. ZEUS Scientific recommande que l'utilisateur prélève les échantillons conformément au document M29 du CLI intitulé « *Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease* » (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, tous les dérivés d'échantillons sanguins doivent être considérés comme possiblement infectieux.
3. Utiliser uniquement du sérum sanguin fraîchement prélevé et correctement réfrigéré, obtenu selon la procédure de ponction veineuse aseptique de cette analyse (15, 16). Ne pas utiliser si un anticoagulant ou un agent de conservation a été ajouté. Éviter d'utiliser du sérum sanguin hémolysé, lipémique ou exposé à des bactéries.
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 à 2 - 8 °C pendant un maximum de 48 heures. Si l'exécution du test est retardée, le sérum sanguin peut être stocké à -20 °C ou moins. Éviter les cycles multiples de gel/dégel pouvant causer une perte d'activité anticorps et produire des résultats erronés. Les laboratoires utilisateurs ont la responsabilité de consulter tous les documents de référence disponibles et/ou leurs propres études afin de déterminer les critères de stabilité appropriés pour leur laboratoire. Les laboratoires utilisateurs ont la responsabilité de consulter tous les documents de référence disponibles et/ou leurs propres études afin de déterminer les critères de stabilité appropriés pour leur laboratoire (19).

PROCÉDURE D'ESSAI

1. Sortir les composants de leur lieu de stockage et laisser les composants se réchauffer à température ambiante (20 - 25 °C).
2. Déterminer le nombre de micropuits nécessaires. Prévoir six déterminations de contrôle/étalon (un blanc réactif, un contrôle négatif, trois étalons et un contrôle positif) par série. Exécuter un blanc réactif pour chaque analyse. Vérifier les exigences de logiciel et de lecteur pour connaître les configurations appropriées contrôles/étalon. Replacer les bandes inutilisées dans le sachet en y laissant le déshydratant, puis fermer hermétiquement le sachet et conserver à 2 - 8 °C.

EXEMPLE DE CONFIGURATION DE PLAQUE		
	1	2
A	Blanc	Patient 3
B	Contrôle négatif	Patient 4
C	Étalon	etc.
D	Étalon	
E	Étalon	
F	Contrôle positif	
G	Patient 1	
H	Patient 2	

3. Préparer une dilution 1:21 (p. ex. 10 µl de sérum + 200 µl de SAve Diluent®) de contrôle négatif, d'étalon, de contrôle positif et de sérum de chaque patient.
REMARQUE : La solution SAve Diluent® changera de couleur pour confirmer que l'échantillon a été combiné avec le diluant.
4. Dans les puits individuels, ajouter 100 µl de contrôle, d'étalon et d'échantillon de patient (solutions diluées). S'assurer que les échantillons sont correctement mélangés. Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon.
5. Ajouter 100 µl de solution SAve Diluent® dans les puits A1 comme blanc réactif. Vérifier les exigences de logiciel et de lecteur pour connaître les configurations appropriées de puits de blanc réactif.
6. Incuber la plaque à température ambiante (20 - 25 °C) pendant 25 ± 5 minutes.
7. Laver les bandes de micropuits 5 fois.
 - a. **Procédure de lavage manuel :**
 1. Secouer vigoureusement pour faire sortir le liquide des puits.
 2. Remplir chaque micropuits de tampon de lavage. S'assurer qu'aucune bulle d'air n'est emprisonnée dans les puits.
 3. Répéter les étapes 1 et 2 jusqu'à un total de 5 lavages.
 4. Secouer vigoureusement pour faire sortir la solution de lavage de tous les puits. Inverser la plaque sur une serviette en papier et donner des coups fermes pour faire sortir les résidus de solution de lavage dans les puits. Inspecter visuellement la plaque pour s'assurer qu'il ne reste aucun résidu de solution de lavage. Récupérer la solution de lavage dans un bassin jetable et traiter avec un désinfectant à la fin des procédures de la journée.
 - b. **Procédure de lavage automatisé :**

Si un système automatisé de lavage de micropuits est utilisé, régler le volume distribué à 300 - 350 µl par puits. Programmer un cycle de 5 lavages sans délai entre les lavages. Si nécessaire, la plaque de micropuits peut être retirée de l'appareil de lavage, puis inversée sur une serviette en papier et recevoir des coups fermes pour faire sortir les résidus de solution de lavage dans les puits.
8. Ajouter 100 µl de conjugué dans chaque puits, y compris dans les puits de blanc réactif, à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons.
9. Incuber la plaque à température ambiante (20 - 25 °C) pendant 25 ± 5 minutes.
10. Laver les micropuits conformément à la procédure décrite dans l'étape 7.
11. Ajouter 100 µl de TMB dans chaque puits, y compris dans les puits de blanc réactif, à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons.
12. Incuber la plaque à température ambiante (20 - 25 °C) pendant 10 ± 15 minutes.
13. Arrêter la réaction en ajoutant 50 µl de solution d'arrêt dans chaque puits, y compris dans les puits de blanc réactif, à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons. Les échantillons positifs passeront du bleu au jaune. Après avoir ajouté la solution d'arrêt, taper plusieurs fois sur la plaque pour que les échantillons soient bien mélangés.
14. Programmer le lecteur de micropuits pour lire avec une longueur d'onde de 450 nm et mesurer la densité optique de chaque puits par rapport au blanc réactif. Lire les résultats de la plaque moins de 30 minutes après avoir ajouté la solution d'arrêt.

RÉSUMÉ DE LA PROCÉDURE D'ANALYSE

1. Diluer le sérum 1:21.
2. Ajouter l'échantillon dilué dans les micropuits à raison de 100 µl/puits.
3. —————> Incuber 25 ± 5 minutes.
4. Laver.
5. Ajouter le conjugué - 100 µl/puits.
6. —————> Incuber 25 ± 5 minutes.
7. Laver.
8. Ajouter le TMB - 100 µl/puits.
9. —————> Incuber 10 - 15 minutes.
10. Ajouter la solution d'arrêt, 50 µl/puits - Mélanger.
11. LIRE les résultats dans les 30 minutes.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

1. Chaque fois qu'une analyse est exécutée, l'étalon doit être exécuté en trois exemplaires. Un blanc réactif, un contrôle négatif et un contrôle positif doivent également être inclus.
2. Calculer la moyenne des trois puits d'étalon. Si une des trois valeurs est à plus de 15 % de la moyenne, éliminer cette valeur et recalculer la moyenne avec les deux puits restants.
3. Les valeurs de densité optique (DO) moyenne de l'étalon, du contrôle positif et du contrôle négatif devraient se situer dans les plages suivantes :

	Plage DO
Contrôle négatif	≤0,250
Étalon	≥0,300
Contrôle positif	≥0,500

- a. La DO du contrôle négatif divisée par la DO moyenne de l'étalon devrait être ≤0,9.
 - b. La DO du contrôle positif divisée par la DO moyenne de l'étalon devrait être ≥1,25.
 - c. Si les conditions ci-dessus ne sont pas satisfaites, le test est invalide et doit être répété.
4. Le contrôle positif et le contrôle négatif servent à détecter une anomalie de réactif substantielle, mais ne garantissent pas la précision à la fin de l'analyse.
 5. Des contrôles supplémentaires peuvent être testés conformément aux réglementations gouvernementales en vigueur et aux normes des organisations d'accréditation compétentes.
 6. Le document C24 du CLSI intitulé « *Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures* » contient des informations supplémentaires sur les procédures appropriées de contrôle de qualité.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. Calculs :

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

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

2. **Interprétations** : Les rapports valeur d'indice/DO sont interprétés de la manière suivante.

	Rapport valeur d'indice/DO
Échantillons négatifs	≤0,90
Échantillons ambivalents	0,91 à 1,09
Échantillons positifs	≥1,10

- a. Un rapport de DO égal ou inférieur à 0,90 signifie qu'il n'a pas été possible de détecter une quantité significative d'anticorps IgG dirigés contre le virus VZV. Un résultat négatif signifie une absence d'infection actuelle ou passée au virus VZV. Ces patients sont présumés non immunisés et sont donc sujets à une primo-infection.
- b. Un rapport DO égal ou supérieur à 1,10 signifie que des anticorps IgG anti-VZV ont été détectés. Un résultat positif signifie une infection au virus VZV actuelle ou passée. Ce résultat réactif indique que le patient en question doit être considéré comme immunisé à une primo-infection par le VZV. Les résultats de ce système d'analyse sont qualitatifs. La valeur du ratio pour les échantillons positifs peut ne pas corrélérer avec le titre d'anticorps. Si le test d'un échantillon intervient tôt dans la primo-infection, il se peut qu'aucun taux d'IgG ne soit détecté. Si une infection par le virus VZV est suspectée, un second échantillon doit être prélevé au moins quatorze jours plus tard.
- c. Refaire deux fois le test sur les échantillons lorsque les rapports de DO sont dans la zone d'ambivalence (0,91 – 1,09). Le résultat final sera obtenu dès que deux mesures concordantes seront observées. Évaluer répétitivement les échantillons ambivalents avec une autre méthode sérologique et/ou reprendre l'évaluation en prélevant d'autres échantillons une à trois semaines plus tard.

LIMITES DE L'ESSAI

1. Aucun diagnostic ne doit être rendu sur la base des seuls résultats du test ZEUS ELISA IgG anti-VZV. Les résultats des tests de dépistage du virus VZV doivent être interprétés en conjonction avec une évaluation clinique et les résultats d'autres procédures diagnostiques.
2. Les résultats positifs de sang prélevé au cordon ombilical ou sur des nouveau-nés doivent être interprétés avec prudence.
3. Un résultat réactif chez un patient immunodéprimé n'indique pas nécessairement une infection antérieure par le virus de la varicelle. Les résultats d'analyses à partir de produits sanguins récents doivent être interprétés avec prudence.
4. Les caractéristiques de performance avec des personnes vaccinées par le VZV (souche OKA) n'ont pas été établies par ZEUS Scientific.

RÉSULTATS ATTENDUS

1. Les études de population utilisant des tests de diagnostics pour l'analyse d'anticorps indiquent que la plupart des gens ont déjà été infectés par le VZV avant l'âge de vingt ans (17).
2. L'étude clinique de ce produit a été réalisée sur 200 échantillons de routine qui ont été envoyés à un laboratoire de référence pour une sérologie du virus VZV. En ce qui concerne cette population, 35 des 200 échantillons (17,5 %) étaient négatifs, 161 des 200 (80,5 %) étaient positifs et 4 des 200 (2 %) étaient ambivalents. La figure ci-dessous présente une distribution de fréquence des résultats de l'étude décrite ci-dessus.

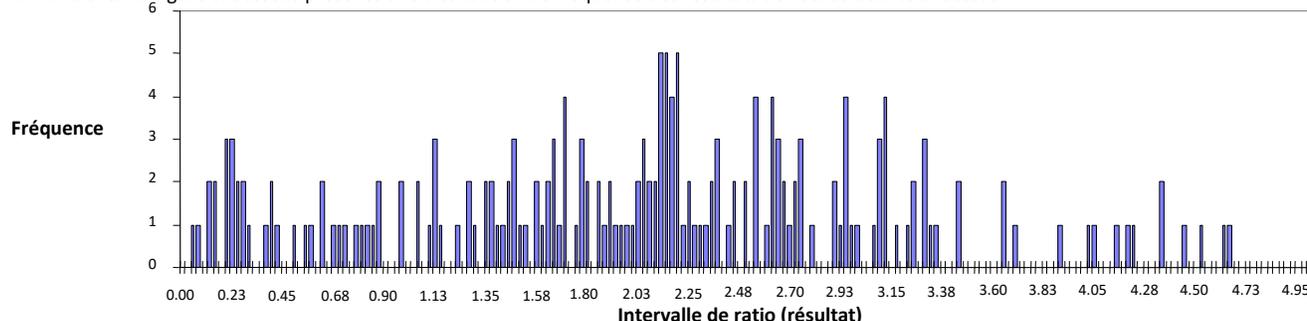


Figure 1 : Distribution statistique de 200 échantillons sérologiques VZV de routine

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

1. Étude comparative :

Le système ZEUS ELISA IgG anti-VZV a été comparé à un autre essai ELISA disponible dans le commerce pour le dépistage d'anticorps IgG dirigés contre le virus de la varicelle-zona. Au total, 241 échantillons ont été analysés : 121 sur le site 1 et 120 sur le site 2. Les échantillons testés sur le site 1 incluaient 100 échantillons envoyés à un laboratoire de référence pour une sérologie VZV standard et 21 échantillons qui avaient déjà été caractérisés comme étant IgG anti-VZV négatifs. Les échantillons testés sur le site 2 incluaient 100 échantillons envoyés à un laboratoire de référence pour une sérologie VZV standard et 20 échantillons qui avaient déjà été caractérisés comme étant IgG anti-VZV négatifs. Les tableaux 1 et 2 résumés les résultats de cette étude comparative.

Tableau 1 : Calculs de sensibilité relative, de spécificité et de pourcentage de concordance, site 1

		Résultats du test ZEUS ELISA IgG anti-VZV*			
		Positif	Négatif	Ambivalent	Total
Résultats du test ELISA vendu dans le commerce	Positif	78	3	3*	84
	Négatif	2	34	0	36
	Ambivalent	1*	0	0	1
	Total	81	37	3	121

Sensibilité relative = 78/81 = 96,3 %

Intervalle de confiance à 95 %** = 92,2 % à 100 %

Concordance relative = 112/117 = 95,7 %

Intervalle de confiance à 95 %** = 92,1 % à 99,4 %

Spécificité relative = 34/36 = 94,4 %

Intervalle de confiance à 95 %** = 90,0 % à 100 %

*Échantillons ayant produit un résultat ambivalent avec el test ZEUS ELISA IgG anti-VZV. La répétition à plusieurs reprises de l'analyse sur les échantillons a toujours produit un résultat ambivalent. Un échantillon s'est révélé répétitivement ambivalent avec le test commercial. Ces quatre échantillons ambivalents ont été exclus des résultats.

** Les intervalles de confiance à 95 % ont été calculés par la méthode exacte.

Tableau 2 : Calculs de sensibilité relative, de spécificité et de pourcentage de concordance, site 2

		Résultats du test ZEUS ELISA IgG anti-VZV			
		Positif	Négatif	Ambivalent	Total
Résultats du test ELISA vendu dans le commerce	Positif	77	3	2	82
	Négatif	3	34	0	37
	Ambivalent	0	1***	0	1
	Total	80	38	2	120

Sensibilité relative = 77/80 = 96,3 %

Intervalle de confiance à 95 %** = 92,1 % à 100 %

Concordance relative = 111/117 = 94,9 %

Intervalle de confiance à 95 %** = 90,9 % à 98,9 %

Spécificité relative = 34/37 = 91,9 %

Intervalle de confiance à 95 %** = 83,1 % à 100 %

** Les intervalles de confiance à 95 % ont été calculés par la méthode exacte.

***Deux échantillons étaient ambivalents avec le test Zeus et un échantillon était ambivalent avec le test vendu dans le commerce. Les échantillons n'ont pas fait l'objet de dosages à répétition faute de volume suffisant. Ces trois échantillons ont été exclus des calculs.

2. Reproductibilité

La reproductibilité est mesurée suivant le protocole EP5-T2 : [Evaluation of precision Performance of Clinical Chemistry Devices - Second Edition \(Évaluation de la précision du rendement des appareils de chimie clinique - deuxième édition\)](#), tel que publié par le Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI), Vilanova, PA. Des études de reproductibilité ont été menées sur les deux sites cliniques avec les mêmes échantillons. En résumé, huit échantillons ont été testés, deux échantillons fortement positifs, deux échantillons près de la valeur seuil de densité optique (un faiblement positif et un fortement négatif) et deux échantillons négatifs, ainsi que le contrôle négatif et le contrôle positif du système de test. Lors de chaque jour de test, les huit échantillons ont été testés en deux exemplaires. En outre, lors de chaque jour de test, l'analyse a été exécutée deux fois, une fois le matin et une fois l'après-midi, pour un total de quatre exemplaires quotidiens de chaque échantillon. Le site 1 a réalisé cette étude de reproductibilité pendant vingt jours, pour un total de 80 observations pour chacun des huit membres du panel. Le site 2 a réalisé l'étude de reproductibilité pendant 10 jours, pour un total de 40 observation pour chaque échantillon. Le tableau 3 résume les résultats de cette étude.

Tableau 3. Résumé des analyses de précision sur les sites cliniques 1 et 2

Échantillon	Site	Rapport moyen	Résultat	SWR*	ET**	Jours	Observations totales	% CV global
VG-1	1	3,124	Positif	0,132	0,167	20	80	5,35
	2	4,537		0,242	0,518	10	40	11,43
VG-5	1	3,144	Positif	0,059	0,141	20	80	4,47
	2	4,370		0,176	0,457	10	40	10,46
VG-3	1	1,531	Modéré	0,057	0,087	20	80	5,69
	2	2,148	Positif	0,164	0,324	10	40	15,06
VG-4	1	0,731	Élevé	0,023	0,040	20	80	5,48
	2	0,606	Négatif	0,057	0,085	10	40	14,09
VG-9	1	0,152	Négatif	0,012	0,022	20	80	S.O.
	2	0,010		0,022	0,026	10	40	
VG-10	1	0,198	Négatif	0,014	0,022	20	80	S.O.
	2	0,067		0,030	0,061	10	40	
Positif Contrôle	1	3,851	Positif	0,188	0,218	20	80	5,65
	2	2,114		0,226	0,312	10	20	14,77
Négatif Contrôle	1	0,197	Négatif	0,009	0,025	20	80	S.O.
	2	0,022		0,025	0,024	10	40	

*Estimation ponctuelle de l'écart-type de précision intra-essai.

**Estimation ponctuelle de l'écart-type de précision totale.

3. Réactivité croisée

Des études ont été réalisées afin d'évaluer l'interférence dans le système ZEUS ELISA IgG anti-VZV avec des sérums négatifs pour les anticorps dirigés anti-VZV et qui présentaient des anticorps dirigés contre la rubéole, CMV, VHS-1, VHS-2, EBV VCA, EBNA-1, rougeole et oreillons. Les résultats de cette étude sont résumés dans le tableau 4 ci-dessous. Tous les systèmes de test utilisés ont été fabriqués pour Zeus Scientific, pour distribution commerciale. Cette étude n'a produit aucune réactivité croisée dépistable avec ces divers anticorps IgG et le test ZEUS ELISA IgG anti-VZV.

