

UTILISATION PRÉVUE

Le système de test ZEUS ELISA IgG anti-VZV est un test ELISA conçu pour la détermination qualitative d'anticorps IgM dirigés contre le virus varicelle-zona (VZV) dans le sérum humain, dans le cas d'un diagnostic lors d'une première infection ou de la réactivation du virus. La performance du réactif pour la détection des anticorps au VZV chez des personnes vaccinées avec un vaccin contre le VZV agréé par la FDA est inconnue. L'utilisateur du réactif doit établir les caractéristiques des performances du test chez les individus vaccinés. La performance du réactif pour la détection du VZV dans le sang de cordon ombilical ou chez les nouveaux nés n'a pas été établie.

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

1. Le sérum devant être testé est dilué avec le diluant d'échantillon fourni. Le diluant d'échantillon contient de l'IgG anti-humaine qui lie l'IgG et le facteur rhumatoïde de l'échantillon, de façon à prévenir une liaison non spécifique avec l'antigène immobilisé. Lors de l'incubation de l'échantillon, tout anticorps IgM spécifique de l'antigène qui est présent dans l'échantillon se lie à l'antigène immobilisé. La plaque est lavée de façon à enlever les anticorps non fixés et les autres composants sériques.
2. Des anticorps IgM 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 IgM immobilisés sur la phase solide de l'étape 1. Les puits sont lavés pour enlever le conjugué non fixé.
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.

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 le diluant d'échantillon.

PLATE	1. 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	2. Conjugué : Solution d'IgM antihumains d'origine caprine conjuguée à de la peroxydase du raifort (spécifique à la chaîne μ). Un flacon de 15 ml avec bouchon blanc. Prêt à l'emploi.
CONTROL +	3. Contrôle positif (sérum humain) : Une ampoule de 0,35 ml avec bouchon rouge.
CAL	4. Étalon (sérum humain) : Une ampoule de 0,5 ml avec bouchon bleu.
CONTROL -	5. Contrôle négatif (sérum humain) : Une ampoule de 0,35 ml avec bouchon vert.
DIL SPE	6. Diluant d'échantillon : Un flacon de 30 ml à bouchon vert contenant du Tween-20, de l'albumine de sérum bovin et tampon phosphate salin. Solution pourpre. Prêt à l'emploi.
SOLN TMB	7. TMB : Un flacon de 15 ml à bouchon ambre contenant du tétraméthyl-3, 3', 5, 5'-benzidine (TMB). Prêt à l'emploi.
SOLN STOP	8. Solution d'arrêt : Un flacon de 15 ml à bouchon rouge contenant du 1M H ₂ SO ₄ , 0.7M HCl. Prêt à l'emploi.
WASHBUF 10X	9. Tampon de lavage concentré (10 x) : Dilution d'un volume de concentré dans neuf volumes d'eau distillée ou déionisée. Un flacon 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.
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.

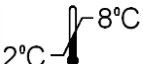
PRÉCAUTIONS

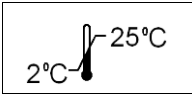
1. Pour utilisation diagnostique *in vitro* uniquement.
2. Observer les précautions normalement applicables lors de toute manipulation de réactif de laboratoire. En cas de contact oculaire, rincer immédiatement les yeux avec beaucoup d'eau et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés, 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 (15).
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 absorption ou aspiration) avant d'ajouter le conjugué ou le substrat. Ne pas laisser les puits sécher entre les incubations.
7. Le diluant d'échantillon, les solutions de contrôle et la solution étalon contiennent de l'azoture de sodium sous une concentration inférieure à 0,1 % (volume d'eau). Il a été signalé que l'azoture de sodium pouvait former des accumulations de plomb ou d'azoture 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'azoture 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'azoture de sodium comme agent de conservation. Des quantités résiduelles d'azoture 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 : Refermer 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, diluant d'échantillon



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 (16, 17). 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, ainsi que des échantillons à forte teneur en IgG. Il a été démontré que des niveaux élevés d'IgG pouvaient réduire la réactivité aux anticorps IgM anti-VZV.
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 diluant d'échantillon) de contrôle négatif, d'étalon, de contrôle positif et de sérum de chaque patient.
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 diluant d'échantillon 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. $\xrightarrow{\hspace{2cm}}$ 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 dans chaque analyse.
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 :

	<u>Plage DO</u>
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 sur 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 x DO moyenne de l'étalon = 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 x 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.

	<u>Rapport valeur d'indice/DO</u>
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 IgM dirigés contre le virus VZV. Un résultat négatif signifie une absence d'infection au VZV. Cependant, les échantillons obtenus trop tôt durant une primo-infection peuvent ne pas présenter de niveaux détectables d'anticorps IgM. Si une primo infection est suspectée, un nouvel échantillon devra faire l'objet d'un nouveau dosage dans les 7 jours et testé en parallèle du premier au cours de la même série pour confirmer une séroconversion.
- b. Un rapport DO égal ou supérieur à 1,10 signifie que des anticorps IgM anti-VZV ont été détectés. Un résultat positif témoigne d'une primo-infection ou d'une réactivation par le VZV. Ce résultat indique que le patient en question doit être considéré comme potentiellement contagieux pour le virus VZV.
- 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. Si le second échantillon est positif, la primo-infection est avérée chez le patient.

LIMITES DE L'ESSAI

1. Aucun diagnostic ne doit être rendu sur la base des seuls résultats du test ZEUS ELISA IgM 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. Ce test n'a pas été conçu pour une utilisation massive chez des donneurs de sang.
3. Un résultat réactif chez un patient immunodéprimé n'indique pas nécessairement une infection antérieure par le virus VZV. Les résultats d'analyses à partir de produits sanguins récents doivent être interprétés avec prudence.
4. Les performances du test chez des personnes vaccinées contre le VZV (Souche OKA) n'ont pas été établies.
5. L'absorbant anti-IgG dans le diluant d'échantillon a été défini pour éliminer efficacement des taux d'IgG sup/égal à 13,9mg/ml dans le sérum humain. Les patients avec un taux d'IgG supérieur à 14mg/ml doivent subir un traitement visant à neutraliser tous les IgG. Il a été démontré que des niveaux élevés d'IgG pouvaient réduire la réactivité aux anticorps IgM anti-VZV.
6. Une éventuelle réaction croisée avec des échantillons de patients atteints du HSV-1 ou du HSV-2 n'a pas été évaluée avec ce test.

RÉSULTATS ATTENDUS

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 (18). L'étude clinique de ce produit a été réalisée sur 302 échantillons de routine qui ont été envoyés à un laboratoire de référence pour une sérologie du virus VZV. Deux échantillons ont été soumis sans préciser le sexe du patient. Les données démographiques sont résumées dans le tableau 1. Les données obtenues à partir de l'étude clinique sont exposées dans le tableau 2.

Tableau 1 : Données démographiques

	Échantillon (N)	Envoyé pour	Région d'origine	Sexe (H : F)	Âge médian	Échantillons pédiatriques	Femmes en âge de procréer
Site 1	131	Anticorps au VZV	Nord-est	17 : 114*	32.1	2	103
Site 2	47	Anticorps au VZV	Nord-est	8 : 38*	36.9	2	20
Site 3	124	Anticorps au VZV	Ouest	39 : 84	34.6	13	62
Total	302			64 : 236	34.5	17	185

* Échantillons soumis sans préciser le sexe du patient.

Tableau 2 : Valeurs attendues/plages de référence

Âge	Groupe d'échantillons	Négatif pour IgM anti-VZV	Positif pour IgM anti-VZV	Ambivalent pour IgM anti-VZV	Invalide
1 - 9	Prospectifs, hommes	1	4		
	Prospectifs, femmes		3		
10 - 19	Prospectifs, hommes	1	10		
	Prospectifs, femmes		19	1	
20 - 29	Prospectifs, hommes		13		
	Prospectifs, femmes		85	2	
	Sexe inconnu		1		
30 - 39	Prospectifs, hommes		14		
	Prospectifs, femmes		64		
	Sexe inconnu		1		
40 - 49	Prospectifs, hommes		7		
	Prospectifs, femmes		26	1	
50 - 59	Prospectifs, hommes		7		
	Prospectifs, femmes	1	16		
60 - 69	Prospectifs, hommes		4		
	Prospectifs, femmes	2	10		
70+	Prospectifs, hommes		3		
	Prospectifs, femmes	1	4	1	
Totaux	Prospectifs, hommes	2	62		
	Prospectifs, femmes	4	227	5	
	Sexe inconnu		2		
	Sous-total	6	291	5	0
	Total	302			

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

1. Étude comparative

Une étude comparative a été réalisée pour démontrer l'équivalence du test ZEUS ELISA IgM anti-VZV à deux autres tests ELISA IgM anti-VZV actuellement sur le marché. Les résultats ont été évalués sur trois sites cliniques. Au total, 338 échantillons ont été analysés : 131 sur le premier site, 53 sur le site 2 et 154 sur le troisième site. Les échantillons du premier site ont été soumis aux tests pour les anticorps au VZV. Les échantillons du site 2 comportaient 47 échantillons soumis à un examen de routine pour la recherche des anticorps IgM au VZV et 6 échantillons préalablement caractérisés comme positifs. Les échantillons du site 3 comportaient 124 échantillons soumis à un examen de routine pour la recherche des anticorps IgM au VZV et 30 échantillons préalablement caractérisés comme positifs. Les résultats de cette étude comparative ont été résumés dans les tableaux suivants, l'un représentant les échantillons attendus et l'autre représentant à la fois les échantillons attendus et rétrospectifs.

Tableau 3 : Échantillons attendus (prospectifs), sites combinés

		Résultats du test ELISA vendu dans le commerce			
		Positif	Négatif	Ambivalent	Total
Résultats du test ZEUS ELISA IgM anti-VZV	Positif	6	4	2	12
	Négatif		281		281
	Ambivalent		7	2	9
	Total	6	292	4	302

Concordance positive = 6/6 = 100 %

Intervalle de confiance à 95 %** = 54,1 % à 100 %

Concordance négative = 281/294 = 95,6 %

Intervalle de confiance à 95 %** = 96,2 % à 97,6 %

Tableau 4 : Échantillons prospectifs et rétrospectifs, sites combinés

		Résultats du test ELISA vendu dans le commerce			
		Positif	Négatif	Ambivalent	Total
Résultats du test ZEUS ELISA IgM anti-VZV	Positif	38	4	4	46
	Négatif		282		282
	Ambivalent	1	7	2	10
	Total	39	293	6	338

Concordance positive = 38/39 = 97,4 %

Intervalle de confiance à 95 %** = 86,5 % à 99,9 %

Concordance négative = 282/297 = 94,9 %

Intervalle de confiance à 95 %** = 91.8% à 97.1%

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

2. Reproductibilité

La reproductibilité est mesurée suivant le protocole EP5-T2 : Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices - Second Edition, publié par le CLSI. Des études de reproductibilité ont été menées sur les trois sites, avec les mêmes échantillons. Six échantillons ont été testés, deux échantillons fortement positifs, deux échantillons près de la valeur seuil de densité optique et deux échantillons négatifs. Chaque jour de test, tous les échantillons ont été répétés huit fois. Cela a été répété pendant un total de 3 jours. Le tableau 5 présente un résumé des analyses réalisées sur les trois sites.

Tableau 5 : Résumé des tests de reproductibilité

Échant.		Site 1			Site 2			Site 3			Précision inter-essai			Entre sites
		Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Site 1	Site 2	Site 3	
1	Moyenne	3,38	3,52	3,50	3,60	4,21	3,69	3,43	3,54	3,38	3,47	3,84	3,45	3,6
	ET	0,10	0,06	0,08	0,03	0,12	0,06	0,08	0,10	0,07	0,10	0,29	0,10	0,3
	% CV	2,8	1,8	2,2	1,0	2,9	1,5	2,3	2,7	2,1	0,03	0,07	0,03	7,1
2	Moyenne	2,89	2,90	2,86	2,96	3,18	2,92	2,99	2,97	2,95	2,90	3,02	2,97	3,0
	ET	0,03	0,02	0,09	0,05	0,04	0,06	0,03	0,08	0,07	0,10	0,13	0,06	0,1
	% CV	1,0	0,8	3,0	1,6	1,4	2,1	1,1	2,7	2,3	0,02	0,04	0,02	3,4
3	Moyenne	0,26	0,23	0,24	0,34	0,40	0,33	0,19	0,20	0,18	0,20	0,36	0,19	0,3
	ET	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,03	0,001	0,1
	% CV	5,0	2,3	3,4	2,1	2,9	3,8	3,8	7,5	8,0	0,07	0,10	0,07	28,1
4	Moyenne	0,13	0,11	0,10	0,15	0,14	0,13	0,12	0,13	0,10	0,10	0,14	0,11	0,1
	ET	0,00	0,00	0,00	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,05	0,03	0,0
	% CV	3,6	3,6	2,6	5,0	4,0	7,1	7,5	7,3	8,5	0,11	0,07	0,13	14,0
5	Moyenne	0,91	0,89	0,94	0,82	0,89	0,91	0,95	0,91	0,93	0,90	0,87	0,93	0,9
	ET	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,03	0,02	0,00	0,05	0,03	0,0
	% CV	1,5	2,5	2,4	2,8	1,5	1,8	2,6	2,8	1,7	0,03	0,05	0,03	4,6
6	Moyenne	0,90	0,89	0,88	0,73	0,87	0,91	1,00	0,93	0,91	0,90	0,84	0,95	0,9
	ET	0,02	0,02	0,01	0,02	0,02	0,01	0,03	0,02	0,03	0,00	0,08	0,05	0,1
	% CV	3,0	2,	0,9	3,3	2,4	1,4	3,3	2,5	3,4	0,02	0,10	0,05	8,0

3. Réactivité croisée

Des études ont été menées afin d'évaluer l'interférence dans le système d'analyse ZEUS ELISA IgM anti-VZV avec des sérums contenant des anticorps IgM contre l'EBV, le CMV, les oreillons, les facteurs rhumatoïdes, la maladie de Lyme, la toxoplasmose, la rougeole et la rubéole. Tous les systèmes de test utilisés ont été fabriqués par Zeus Scientific, pour distribution commerciale. L'étude n'a révélé aucune réaction croisée détectable avec des différents anticorps.

Tableau 6 : Réactivité croisée

Forme de maladie	Échantillons testés	Échantillons positifs ou ambivalents
IgM EBV	10	0/10
IgM CMV	10	0/10
IgM oreillons	10	0/10
IgM RF	10	0/10
IgM Lyme	10	0/10
IgM toxoplasmose	10	0/10
IgM rubéole	10	0/10
IgM rougeole	10	0/10

Mise en garde : La réactivité croisée de ce dosage sur des échantillons contenant des anticorps aux HSV-1 et HSV-2 n'a pas été déterminée.

4. Substances interférentes

Les effets de potentielles substances interférentes sur des résultats d'échantillons positifs en utilisant le système de test ZEUS ELISA IgM anti-VZV ont été évalués avec les potentiels interférents suivants : bilirubine, albumine, IgG, cholestérol, triglycéride, hémoglobine et les intra-lipides. Trois échantillons, testés pour les IgM anti-VZV, ont été enrichis avec deux fois le taux normal de possible interférents et testés à nouveau avec le système de test ZEUS ELISA IgM anti-VZV. Une élévation du signal en présence d'hémoglobine a été notée. Une réduction du signal en présence d'un taux excessivement haut d'IgG également. Dans tous les cas, les résultats qualitatifs des trois échantillons sont restés inchangés.

Tableau 7 : Substances interférentes (Remarque : Tous les résultats sont reportés comme valeurs indicatives)

	Niveau de charge	Échantillon 1		Échantillon 2		Échantillon 3	
		Positif	% de signal positif	Ambivalent	% de signal positif	Négatif	% de signal de contrôle
Contrôle - PBS	S.O.	3,67	S.O.	0,88	S.O.	0,07	S.O.
Contrôle - Éthanol	S.O.	3,59	S.O.	0,82	S.O.	0,07	S.O.
Bilirubine	Bas	3,78	103,16%	0,93	105,33%	0,08	123,53%
Bilirubine	Élevé	3,59	97,93%	0,90	101,7%	0,06	92,65%
Albumine	Bas	3,63	99,05%	0,91	103,63%	0,06	88,24%
Albumine	Élevé	3,82	104,01%	0,89	100,45%	0,07	108,82%
IgG	Bas	2,71	69,6%	0,79	83,0%	0,10	245,0%
IgG	Élevé	1,98	48,6%	0,51	56,70%	0,16	400,0%
Cholestérol	Bas	3,50	97,63%	0,88	107,6%	0,07	100,0%
Cholestérol	Élevé	3,60	100,33%	0,88	107,6%	0,07	102,82%
Triglycérides	Bas	3,80	105,94%	0,87	106,99%	0,07	100,0%
Triglycérides	Élevé	3,79	105,61%	0,88	107,6%	0,07	92,96%
Hémoglobine	Bas	3,77	102,81%	0,94	106,58%	0,14	201,47%
Hémoglobine	Élevé	4,06	110,66%	0,97	109,64%	0,11	167,65%
Intralipides	Bas	3,77	102,73%	0,87	98,53%	0,08	120,59%
Intralipides	Élevé	3,62	98,66%	0,87	98,75%	0,07	98,53%
Contrôle	S.O.	3,66	S.O.	0,89	S.O.	0,06	S.O.

RÉFÉRENCES

- Weller TH, Witton HM, Bell EJ. Exp. Med. 108:843, 1958
- Weller TH, Coons AH: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86:789, 1954
- Weller TH: Viral Infections of Human: Epidemiology and Control. 2nd ed. NY: Pelnum 569-95, 1982

4. Kimura A, et al: Arch virusforsch 36: 1, 1972
5. Esiri M, Tomlinson AH: J. Neurol. Sci. 15:25, 1972
6. Oakes JE, Iltis JP Hyman RW, et al: Virology, 82:353, 1977
7. Richards JC, Human RW, Rapp F: J. Virol. 32:812, 1979
8. Fleisher G, Henry W, McSorley M, Arbeter A, Plotkin S: Am. J. Dis. Child. 135:869-9, 1981.
9. Preblud SR: Pediatrics 68:14-7, 1981.
10. Ojeda VJ, et al: ASCP 529-532 (Vol 81, No.4), April 1984.
11. The Harvard Medical School Health Center, Vol IX. No.8 "Shingles". June, 1984.
12. Leclair JM, Zaia JA, Levin MJ: N. Engl. J. Med. 302:450, 1980.
13. Tyzzer EE: J. Med. Res. 14:361, 1960.
14. Stevens DA, Merigan TC: J. Infect. Dis. 509, 1975.
15. U.S. Department of Labor (OSHA), Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. 21CFR 1910-1030.
16. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18, Current edition. Approved Guideline.
17. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture: Current edition. Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
18. 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.



ZEUS Scientific, Inc.
 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

ZEUS ELISA et SAve Diluent[®] sont des marques de commerce de ZEUS Scientific, Inc.

Système de dépistage d'IgM anti-VZV

Si vous désirez une assistance clientèle aux États-Unis, veuillez contacter votre distributeur local.
 Si vous avez besoin d'assistance technique aux États-Unis, veuillez contacter ZEUS Scientific au numéro de téléphone gratuit indiqué ou par courriel à support@zeusscientific.com.
 Les clients ayant besoin d'assistance commerciale ou technique hors des États-Unis doivent contacter leur distributeur régional.
 © 2017 ZEUS Scientific, Inc. Tous droits réservés.



(Actualisé le 12/14/2017)