

UTILISATION PRÉVUE

Le système de test ZEUS ELISA *Borrelia* VlsE1/pepC10 IgG/IgM est destiné à la détection qualitative des anticorps de classe IgG et IgM dirigés contre les antigènes VlsE1 et pepC10 de *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 le système de test ZEUS ELISA *Borrelia* VlsE1/pepC10 IgG/IgM 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 ou IgM ;
ou
- (2) une méthodologie de test modifié à deux niveaux (TMDN) utilisant un ou plusieurs des trois tests ELISA suivants :
 - Système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgG/IgM
 - Système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgM
 - Système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgG

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. Le micro-organisme est transmis par les tiques du genre *Ixodes*. 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). Bien que seuls des IgM puissent être détectés au cours du premier mois suivant le déclenchement de la maladie, la majorité des patients développent également des anticorps IgG dès le premier mois. 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 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. De même, 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 (9,10,11) 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.

Différents antigènes ont été testés au cours des dernières années afin d'améliorer le diagnostic sérologique de la maladie de Lyme. L'une de ces approches a consisté à tester les anticorps dirigés contre les antigènes VlsE1 et pepC10. Ce dosage détecte les anticorps IgG et IgM dirigés contre les antigènes VlsE1 et pepC10.

PRINCIPE DU TEST

Le système de test ZEUS ELISA *Borrelia* VlsE1/pepC10 IgG/IgM est conçu pour détecter les anticorps de classe IgG et IgM dirigés contre les antigènes VlsE1 et pepC10 dans le sérum humain. 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 anti-IgG et anti-IgM humaines conjugués à la peroxydase sont ajoutés aux puits et la plaque est mise en incubation. Le conjugué réagira avec les anticorps IgG et/ou IgM 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 SAVE Diluent®.**

Composant	\sum_{96}	\sum_{480}	Description
PLATE	1	5	Plaque : 96 puits disposés en 12 bandes de 8 puits recouverts d'antigènes inactivés VlsE1 et pepC10. Les bandes sont conditionnées dans un support de bandes et scellées dans une enveloppe contenant un agent dessiccatif.
CONJ	1	5	Conjugué : anticorps de chèvre anti-IgG et anti-IgM humaines conjugués (peroxydase de raifort) dans des flacons à bouchon blanc de 15 ml. Prêt à l'emploi.

CONTROL	+	1	2	Contrôle positif (sérum humain) : ampoule(s) à bouchon rouge de 0,35 ml.
CAL		1	4	Étalonneur (sérum humain) : ampoule(s) à bouchon bleu de 0,5 ml.
CONTROL	-	1	2	Contrôle négatif (sérum humain) : ampoule(s) à bouchon vert de 0,35 ml.
DIL	SPE	1	4	Diluant SAVE Diluent® : flacon(s) à bouchon vert de 30 ml contenant du Tween-20, de la sérum-albumine bovine et une solution saline tamponnée au phosphate. Prêt à l'emploi. REMARQUE : Le diluant SAVE Diluent® change de couleur lorsqu'il est combiné à du sérum.
SOLUTION	TMB	1	5	TMB : flacon(s) ambré(s) à bouchon ambré de 15 ml contenant de la 3, 3', 5, 5' - tétraméthylbenzidine (TMB). Prêt à l'emploi.
SOLUTION	STOP	1	3	Solution d'arrêt : flacon(s) à bouchon rouge de 15 ml contenant 1 M de H ₂ SO ₄ , 0,7 M de HCl. Prêt à l'emploi.
WASHBUF	10X	1	5	Concentré de tampon de lavage (10X) : dilution d'une partie de concentré + 9 parties d'eau désionisée ou distillée. Flacon(s) à bouchon transparent de 100 ml contenant un mélange de solution saline tamponnée au phosphate et de Tween 20 (solution bleue) concentré 10 fois. REMARQUE : la solution 1X aura un pH de 7,2 ± 0,2.

REMARQUES :

- 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. Le diluant SAVE Diluent® peut être utilisé indifféremment avec tous les systèmes de test ZEUS ELISA utilisant le n° de produit 005CC.
- Le système de test contient également une étiquette relative aux composants contenant des informations spécifiques de lot à l'intérieur de la boîte du système de test.

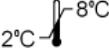
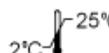
PRÉCAUTIONS

- Pour utilisation diagnostique *in vitro* uniquement.
- 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.
- 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.
- 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).
- 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.
- 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.
- Le diluant SAVE Diluent®, 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.
- 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.
- La solution de TMB est NOCIVE. Ce produit est irritant pour les yeux, le système respiratoire et la peau.
- Le concentré de tampon de lavage est IRRITANT. Ce produit est irritant pour les yeux, le système respiratoire et la peau.
- Essuyer la plaque afin d'éliminer tout liquide résiduel et/ou toute empreinte digitale qui pourraient altérer les lectures de densité optique (DO).
- La dilution et l'adultération de ces réactifs peuvent produire des résultats erronés.
- Ne pas utiliser de réactifs provenant d'autres sources ou d'autres fabricants.
- 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.
- Ne jamais pipeter à la bouche. Éviter tout contact de la peau ou des muqueuses avec des réactifs ou des échantillons humains.
- Éviter toute contamination microbienne des réactifs sous peine d'obtenir des résultats incorrects.
- Une contamination croisée des réactifs et/ou des échantillons peut entraîner des résultats erronés.
- Les récipients en verre réutilisables doivent être lavés et abondamment rincés de façon à enlever tout résidu de détergent.
- Éviter les éclaboussures et la génération d'aérosols.
- Ne pas exposer les réactifs à une lumière puissante durant leur conservation ou durant une incubation.
- Laisser les bandes de micropuits et le support atteindre la température ambiante avant ouverture. L'enveloppe protectrice protégera les puits d'une condensation.
- 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.
- Avertissement : neutraliser les résidus liquides présentant un pH acide avant d'ajouter l'eau de Javel.
- 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.
- Ne pas laisser le conjugué entrer en contact avec des récipients ou des instruments qui ont contenu précédemment une solution utilisant l'azote de sodium comme conservateur. Les quantités résiduelles d'azote de sodium peuvent détruire l'activité enzymatique du conjugué.
- Ne pas exposer les réactifs à des solutions d'eau de Javel ni même aux odeurs fortes s'échappant d'une solution d'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.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- 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.**
- Pipettes en mesure de délivrer exactement des quantités de 10 à 200 µl.
- Pipette multicanal en mesure de délivrer exactement des quantités de 50 à 200 µl.
- Réservoirs de réactifs pour pipettes multicanaux.
- Flacon de lavage ou système de lavage des micropuits.
- Eau distillée ou désionisée.
- Récipient gradué d'un litre.
- Pipettes sérologiques.
- Embouts de pipettes jetables.
- Serviettes en papier.
- Minuterie de laboratoire pour mesurer les étapes d'incubation.
- 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 dessiccateur 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 dessiccateur reste bleu.
	Conjugué – NE PAS CONGELER.
Système de test non ouvert, étalonneur, contrôle positif, contrôle négatif, TMB, diluant SAVE Diluent*	
	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

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

- 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).
- 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.
- 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 contenant des anticoagulants ou des conservateurs ajoutés. Éviter d'utiliser du sérum hémolysé, lipémique ou ayant été contaminé par des bactéries.
- 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 conservé 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 anticorps et produire des résultats erronés. 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 (8).

PROCÉDURE DU TEST

- Retirer les composants individuels de leur lieu de conservation et les laisser se réchauffer à température ambiante (20 – 25 °C).
- 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 replacer 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	

- Préparer une dilution au 1/21e (p. ex., 10 µl de sérum + 200 µl de diluant SAVE Diluent*) de contrôle négatif, d'étalonneur, de contrôle positif et de chaque sérum de patient. S'assurer que les échantillons sont correctement mélangés. **REMARQUE : le diluant SAVE Diluent* changera de couleur pour confirmer que l'échantillon a été combiné au diluant.**
- Dans les puits individuels, ajouter 100 µl de chacun des éléments suivants : contrôle dilué, étalonneur et échantillon de patient. Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon.
- Ajouter 100 µl de diluant SAVE Diluent* au puits A1 comme blanc réactif. Vérifier les exigences du logiciel et du lecteur concernant la configuration correcte du puits du blanc réactif.
- Incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C) pendant 25 ± 5 minutes.
- Laver les bandes de micropuits à cinq reprises.
 - Procédure de lavage manuel :**
 - Agiter vigoureusement pour faire sortir le liquide des puits.
 - Remplir chaque micropuits avec le tampon de lavage. S'assurer qu'aucune bulle d'air n'est piégée dans les puits.
 - Répétez les étapes 1 et 2 pour effectuer un total de cinq lavages.
 - 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.
 - 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.
- 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.
- Incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C) pendant 25 ± 5 minutes.
- Laver les micropuits en suivant la procédure décrite dans l'étape 7.
- 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.
- Incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C) pendant 10 à 15 minutes.
- 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.
- 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

- Diluer le sérum au 1/21e.
- Ajouter l'échantillon dilué au micropuits – 100 µl/puits.
- Incuber pendant 25 ± 5 minutes.
- Laver.
- Ajouter le conjugué, 100 µl/puits.
- Incuber pendant 25 ± 5 minutes.
- Laver.
- Ajouter la TMB 100 µl/puits.
- Incuber pendant 10 à 15 minutes.
- Ajouter la solution d'arrêt – 50 µl/puits – Mélanger.
- LIRE dans un délai de 30 minutes.

CONTRÔLE QUALITÉ

- 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.
- 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.
- Les valeurs moyennes de la DO pour l'étalonneur, le contrôle positif et le contrôle négatif doivent être incluses dans les intervalles suivants :

	Intervalle de la DO
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 DO moyenne 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.

	Rapport valeur d'indice/DO
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'anticorps dirigés contre VlsE1 et pepC10. Si une exposition à *B. burgdorferi* est suspectée, un deuxième échantillon doit être collecté et testé deux à quatre semaines plus tard.
 - 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. L'échantillon doit faire l'objet d'un test de deuxième étape (détection des IgG et/ou des IgM par Western blot).
 - Les échantillons dont les valeurs de rapport de DO se situent dans l'intervalle douteux (0,91-1,09) indique que des anticorps spécifiques dirigés contre *B. burgdorferi* ont été détectés. Ce résultat constitue une preuve présumée d'exposition probable. L'échantillon doit faire l'objet d'un test de deuxième étape (détection des IgG et/ou des IgM par Western blot).
- Interprétation des IgG/IgM par TMDN (2-EIA) :**

Ce test peut être utilisé au cours d'une procédure standard à deux niveaux (TSDN), mais également dans le protocole modifié à deux niveaux (TMDN) ou 2-EIA pour la détection des anticorps IgG/IgM dirigés contre *B. burgdorferi* de la façon suivante.

 - Les échantillons doivent être testés avec le système de test ZEUS ELISA IgG/IgM anti-VlsE1/pepC10 de *Borrelia*.
 - Tous les échantillons positifs et douteux doivent à nouveau être testés avec le système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgG/IgM.
 - 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/IgM et d'une exposition à *B. burgdorferi*.
 - Utilisation et interprétation de la détection d'anticorps IgM par TMDN (2-EIA) :**

Ce test peut être utilisé au cours d'une procédure standard à deux niveaux (TSDN), mais également dans le protocole modifié à deux niveaux (TMDN) ou 2-EIA pour la détection des anticorps IgM dirigés contre *B. burgdorferi* de la façon suivante.

 - Les échantillons doivent être testés avec le système de test ZEUS ELISA IgG/IgM anti-VlsE1/pepC10 de *Borrelia*.
 - Tous les échantillons positifs et douteux doivent à nouveau être testés avec le système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgM.
 - 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 IgM et d'une exposition à *B. burgdorferi*.
 - Utilisation et interprétation de la détection d'anticorps IgG par TMDN (2-EIA) :**

Ce test peut être utilisé au cours d'une procédure standard à deux niveaux (TSDN), mais également dans le protocole modifié à deux niveaux (TMDN) ou 2-EIA pour la détection des anticorps IgG dirigés contre *B. burgdorferi* de la façon suivante.

 - Les échantillons doivent être testés avec le système de test ZEUS ELISA IgG/IgM anti-VlsE1/pepC10 de *Borrelia*.
 - Tous les échantillons positifs et douteux doivent à nouveau être testés avec le système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgG.
 - 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

- L'étude sur le protocole TMDN a été réalisée en utilisant le système de test ZEUS ELISA *Borrelia* VlsE1/pepC10 IgG/IgM comme dosage de premier niveau et le système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgG/IgM ou le système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgM ou le système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgG comme dosage de second niveau, les tests ayant été réalisés dans cet ordre. Les performances du dispositif n'ont pas été établies pour un ordre différent des tests ou pour l'utilisation d'autres dosages EIA dans le cadre de la procédure TMDN (2-EIA).
- Les résultats des tests doivent être interprétés simultanément à l'évaluation clinique et aux résultats d'autres procédures diagnostiques.
- Ne pas effectuer ce test comme procédure de dépistage dans la population générale. La valeur prédictive d'un résultat positif ou négatif dépend de la prévalence de l'analyte (anticorps dirigés contre les antigènes VlsE1 et pepC10) dans une population de patients donnée. Le test ne sera réalisé qu'en présence de preuves cliniques suggérant un diagnostic d'infection par *Borrelia* ou de conditions étiologiques correspondantes observées par les médecins.
- Des échantillons hémolysés, ictériques ou lipémiques ou des échantillons présentant des concentrations anormales d'anticorps IgG ou de facteur rhumatoïde (FR) peuvent interférer avec le résultat de ce dosage. Éviter d'utiliser ce type d'échantillons.
- Les résultats du test doivent être interprétés avec précaution pour les échantillons provenant de patients immunodéprimés.
- Les performances de ce dispositif n'ont pas été établies pour des matrices autres que le sérum.

- Les performances de ce dispositif n'ont pas été établies avec des échantillons contenant des anticorps hétérophiles, qui peuvent entraîner des résultats faux positifs dans de nombreux immunodosages.
- Aucun test n'a été réalisé sur des échantillons contenant des anticorps susceptibles de provoquer des réactions croisées contre *B. burgdorferi*, notamment en cas de fièvre récurrente à tiques, d'infections rickettsiales, d'ehrlichiose, la babésiose et de leptospirose ; les performances de ce dispositif sont par conséquent inconnues en cas de réaction croisée avec ces anticorps.
- Aucun échantillon frais n'a été testé au cours des études prospectives.
- Ce test ne permettra pas de distinguer les résultats positifs à la fois aux IgG et aux IgM des résultats positifs aux IgG ou aux IgM.

RÉSULTATS ATTENDUS

Caractéristiques démographiques et tranches d'âge :

Des investigateurs internes et externes ont évalué les performances de ce dispositif sur 775 échantillons masqués, collectés de manière prospective chez des patients âgés de 3 à 105 ans, qui ont été soumis à un dosage d'anticorps dirigés contre *Borrelia*. Le site Un, l'établissement de recherche du fabricant, a testé 575 échantillons prélevés dans la région de New York. Le site Deux, le laboratoire d'un hôpital du nord-est des États-Unis, a testé 100 échantillons recueillis en Californie. Le site Trois, un laboratoire de référence situé dans le nord-est des États-Unis, a testé 100 échantillons recueillis en Pennsylvanie. Les investigateurs internes et externes ont également évalué les performances du dispositif dans différentes populations. Les caractéristiques démographiques des patients, la quantité d'échantillons testés et le nombre d'échantillons ayant obtenu des résultats positifs pour chaque population sont récapitulés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Caractéristiques démographiques des patients testés avec le système ZEUS ELISA *Borrelia* VlsE1/pepC10 IgG/IgM

Populations	Nombre d'échantillons testés	Sexe		Tranche d'âge	Positifs/testés
		Masculin	Féminin		
Prélèvements prospectifs	775	297	474	3 - 105	63/775
Échantillons caractérisés	100	58	42	3 - 91	92/100
Contrôles endémiques	200	78	122	5 - 99	10/198
Contrôles non endémiques	200	100	100	18 - 88	3/200

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

1. Études cliniques et de comparaison des méthodes avec un dispositif prédictif ELISA actuellement commercialisé :

Les études cliniques ont porté sur 1 314 échantillons de sérum évalués dans trois sites situés aux États-Unis. Tous les échantillons de sérum évalués quant à la concordance ont été testés avec le dosage de référence Multi-Lyte VlsE1/pepC10 IgG/IgM. Les populations suivantes ont été testées au total dans trois sites cliniques : le site Un a été constitué par l'établissement de recherche du fabricant. Le site Deux a été constitué par un laboratoire hospitalier situé dans le nord-est des États-Unis et le site Trois a été constitué par laboratoire de référence également situé dans le nord-est des États-Unis.

a. Échantillons caractérisés (100 échantillons) :

Cent échantillons caractérisés ont été obtenus et testés. Tous les échantillons provenaient de patients présentant des antécédents de borreliose. Les symptômes étaient les suivants : exposition à des tiques, éruption d'érythème migrant, myalgies, arthralgies, fièvre, céphalées et raideurs du cou.

Tableau 2 : Échantillons caractérisés – Résumé des résultats des tests comparatifs

	ZEUS ELISA <i>Borrelia</i> VlsE1/pepC10 IgG/IgM			Dispositif prédictif AtheNA Multi-Lyte® <i>Borrelia</i> VlsE1/pepC10				Western Blot (IgG et/ou IgM)						
	+	-	Total	Concordance avec le diagnostic clinique		+	-	Total	Concordance avec le diagnostic clinique		+	-	Total	Concordance avec le diagnostic clinique
Localisé aigu	68	8	76	89,5 % (68/76)		67	9	76	88,2 % (67/76)		54	22	76	71,1 % (54/76)
IC à 95 %				80,5 - 95,3 %					78,7 - 94,4 %					59,5 - 80,9
Disséminé précoce	3	0	3	100 % (3/3)		3	0	3	100 % (3/3)		3	0	3	100 % (3/3)
IC à 95 %				36,8 - 100 %					36,8 - 100 %					36,8 - 100 %
Disséminé tardif	21	0	21	100 % (21/21)		21	0	21	100 % (21/21)		20	1	21	95,2 % (20/21)
IC à 95 %				86,7 - 100 %					86,7 - 100 %					76,2 - 99,9 %
Total	92	8	100	92,0 % (92/100)		91	9	100	91,0 % (91/100)		77	23	100	77,0 % (77/100)
				84,8 - 96,5 %					83,6 - 95,8 %					67,5 - 84,8 %

REMARQUE 1 : 7/8 échantillons testés négatifs avec le système ZEUS ELISA étaient également négatifs avec le Western blot.

REMARQUE 2 : 21/23 échantillons négatifs avec le Western blot présentaient des bandes, mais ne répondaient pas aux critères d'un résultat positif.

b. Population de prélèvements prospectifs (775 échantillons) :

Trois cents échantillons masqués collectés de manière prospective ont été testés. Ils provenaient de patients auxquels un dosage des anticorps pour la maladie de Lyme avait été prescrit. Les échantillons ont été soumis à un test des anticorps pour la maladie de Lyme, numérotés de manière séquentielle, désidentifiés et archivés. Après l'obtention des échantillons, le site Un, l'établissement de recherche du fabricant, a testé 100 échantillons prélevés dans la région de New York. Le site Deux, le laboratoire d'un hôpital du nord-est des États-Unis, a testé 100 échantillons recueillis en Californie. Le site Trois, un laboratoire de référence situé dans le nord-est des États-Unis, a testé 100 échantillons recueillis en Pennsylvanie. Les sites Un, Deux et Trois ont participé à l'étude prospective I. Le site Un a testé 475 échantillons prospectifs supplémentaires et a comparé les résultats avec le dispositif prédictif. Ceux-ci ont constitué l'étude prospective II.

Tableau 3 : Échantillons de l'étude prospective I

	Dispositif prédictif AtheNA Multi-Lyte® <i>Borrelia</i> VlsE1/pepC10						
	Positif	Négatif	Total	Pourcentage de concordance positive (PCP) ou pourcentage de concordance négative (PCN)		IC à 95 %	
ZEUS ELISA <i>Borrelia</i> VlsE1/pepC10 IgG/IgM	Positif	2	1	3	22,2 % (2/9)		2,8 % - 60,0 %
	Douteux	0	1	1			
	Négatif	7	289	296	99,3 % (289/291)		97,5 % - 99,9 %
	Total	9	291	300			

Tableau 4 : Tests de deuxième niveau de l'étude prospective I : les tests Western Blot ont été réalisés sur les échantillons positifs ou douteux à l'aide du dispositif à l'étude et du dispositif prédictif. Les résultats suivants ont été obtenus :

	Résultats	Taille de l'échantillon (n)	Western Blot IgG/IgM	
			Positif	Négatif
ZEUS ELISA <i>Borrelia</i> VlsE1/pepC10 IgG/IgM	Positif	3	2	1
	Douteux	1	0	1
Dispositif prédictif	Positif	9	1	8

Tableau 5 : Échantillons de l'étude prospective II

	Dispositif prédictif AtheNA Multi-Lyte® <i>Borrelia</i> VlsE1/pepC10						
	Positif	Négatif	Total	Pourcentage de concordance positive (PCP) ou pourcentage de concordance négative (PCN)		IC à 95 %	
ZEUS ELISA IgG/IgM anti-VlsE1/pepC10 de <i>Borrelia</i>	Positif	40	20	60	93,0 % (40/43)		80,9 - 98,6 %
	Douteux	2	0	2			
	Négatif	1	412	413	95,3 % (412/432)		92,4 - 96,8 %
	Total pour le site	43	432	475			

Tableau 6 : Tests de deuxième niveau de l'étude prospective II : les tests Western Blot ont été réalisés sur les échantillons positifs ou douteux à l'aide du dispositif à l'étude et du dispositif prédictif. Les résultats suivants ont été obtenus :

ZEUS ELISA <i>Borrelia</i> VlsE1/pepC10 IgG/IgM	Résultats	Taille de l'échantillon (n)	Western Blot IgG/IgM	
			Positif	Négatif
			Positif	Négatif
	Positif	60	36	24
	Douteux	2	2	0
Dispositif prédictif	Positif	43	30	13

c. **Groupe de maladie de Lyme caractérisé par le CDC (39 échantillons) :**

Quarante-deux (42) échantillons de diverses réactivités ont été obtenus auprès des Centres pour le contrôle et la prévention des maladies (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) puis évalués en interne sur le site du fabricant. Trois échantillons étaient détériorés ou de qualité insuffisante, et ont été exclu des calculs. Parmi les 39 échantillons restants, quatre échantillons provenaient de donneurs présentant un sang normal, et 35 échantillons de patients chez lesquels une borréliose avait été diagnostiquée. Les résultats des tests sont présentés ici afin de fournir des informations complémentaires sur les performances de ce dosage utilisé dans un groupe de sérums caractérisés. Cela ne signifie pas que le dosage a été validé par les CDC.

Tableau 7 : Groupe de maladie de Lyme caractérisé par le CDC – Résumé des résultats de tests comparatifs

Durée depuis le début	ZEUS ELISA <i>Borrelia</i> VlsE1/pepC10 IgG/IgM			AtheNA Multi-Lyte® <i>Borrelia</i> VlsE1/pepC10			Western Blot (IgG et/ou IgM)					
	+	-	Total	Concordance avec le diagnostic clinique	+	-	Total	Concordance avec le diagnostic clinique	+	-	Total	Concordance avec le diagnostic clinique
Normaux	0	4	4	100 % (4/4)	0	4	4	100 % (4/4)	0	4	4	100 % (4/4)
< 1 mois	5	1	6	83,3 % (5/6)	6	0	6	100 % (6/6)	4	2	6	66,7 % (4/6)
1 - 2 mois	5	1	6	83,3 % (5/6)	6	0	6	100 % (6/6)	5	1	6	83,3 % (5/6)
3 - 12 mois	9	7	16	56,3 % (9/16)	13	3	16	81,3 % (13/16)	11	5	16	68,8 % (11/16)
1 - 5 ans	4	0	4	100 % (4/4)	1	3	4	25,0 % (1/4)	4	0	4	100 % (4/4)
> 10 ans	3	0	3	100 % (3/3)	1	2	3	33,3 % (1/3)	3	0	3	100 % (3/3)
Total	26	13	39	74,3 % (26/35)	27	12	39	77,1 % (27/35)	27	12	39	77,1 % (27/35)

d. **Spécificité analytique :**

Des tests ont été effectués sur une population normale en utilisant 200 échantillons provenant d'individus effectuant des tests de routine de nature non infectieuse dans une zone endémique du New Jersey, et 200 échantillons provenant d'individus effectuant des tests de routine de nature non infectieuse dans une zone non endémique du Nouveau-Mexique.

Tableau 8 : Spécificité analytique

Type d'échantillons	Taille de l'échantillon (n)	Négatif	Douteux	Positif	Positivité *
Endémique	200	189	1	10	5,0 %
Non endémique	200	197	0	3	1,5 %

* La positivité avec le dispositif prédictif a été : endémique = 4,2 % ; non endémique = 1,5 %.

e. **Précision et reproductibilité :**

Deux études séparées ont été réalisées pour évaluer la reproductibilité : une étude de reproductibilité sur trois sites d'une durée de cinq jours, et une étude de répétabilité sur un site unique d'une durée de 20 jours. Les études ont été réalisées de la façon suivante : 12 échantillons ont été identifiés/préparés (par ZEUS Scientific) afin d'être utilisés dans les deux études, sur la base de leur activité sur le système de test ZEUS ELISA *Borrelia* VlsE1/pepC10 IgG/IgM. Les échantillons sélectionnés ont été les suivants :

- Négatif** : échantillon sans analyte, de telle sorte que les résultats du test répété de cet échantillon soient négatifs dans 100 % des cas.
- Négatif, proche du seuil** (concentration C5) : échantillon présentant une concentration d'analyte inférieure au seuil clinique, de telle sorte que les résultats du test répété sur cet échantillon soient négatifs dans approximativement 95 % des cas.
- Faiblement positif** (concentration C95) : échantillon présentant une concentration d'analyte supérieure au seuil clinique, de telle sorte que les résultats du test répété sur cet échantillon soient positifs dans approximativement 95 % des cas.
- Modérément positif** : échantillon présentant une concentration en analyte telle que les résultats du test répété de cet échantillon soient positifs dans 100 % des cas.

La reproductibilité du dosage a été évaluée dans trois sites cliniques externes. Pour évaluer la reproductibilité, lors de chacune des journées de test, chaque échantillon a été dilué deux fois, puis chaque dilution a été testée à trois reprises. Cette procédure a été réalisée deux fois par jour par deux techniciens différents, et a été répétée pendant cinq jours. Les résultats de l'étude de reproductibilité sont présentés dans le Tableau 9. La répétabilité du dosage a été évaluée sur le site du fabricant. Lors de chacune des journées de test, les échantillons ont été dilués deux fois, puis testés. Cette procédure a été répétée lors d'une seconde session le même jour par un technicien différent, pendant une durée totale de 20 jours. Les résultats de l'étude de répétabilité sont présentés dans le Tableau 10.

Tableau 9 : Résultats de reproductibilité

Échantillons		Taille de l'échantillon (n)	Moyenne de la VI	Dans la série		Dans la journée		Entre les séries		Entre les sites		Total	
				ET	% CV	ET	% CV	ET	% CV	ET	% CV	ET	% CV
Échantillon 1	Modérément +	180	2,33	0,12	5,0	0,14	6,0	0,09	4,0	0,15	6,3	0,15	6,5
Échantillon 2	Modérément +	180	2,23	0,16	6,9	0,18	8,2	0,10	4,6	0,19	8,6	0,19	8,6
Échantillon 3	Modérément +	180	2,56	0,14	5,3	0,17	6,4	0,11	4,3	0,19	7,3	0,19	7,4
Échantillon 4	Faiblement +	180	1,29	0,09	6,7	0,11	8,4	0,07	5,7	0,11	8,6	0,11	8,7
Échantillon 5	Faiblement +	180	1,35	0,09	6,5	0,11	8,2	0,08	6,2	0,11	8,4	0,12	8,7
Échantillon 6	Faiblement +	180	1,36	0,09	6,6	0,11	8,2	0,08	6,1	0,12	8,7	0,12	8,9
Échantillon 7	Négatif, proche du seuil	180	0,74	0,05	6,6	0,06	7,8	0,04	4,9	0,06	8,1	0,06	8,1
Échantillon 8	Élevé	180	0,61	0,05	7,6	0,05	9,0	0,04	5,8	0,05	9,0	0,06	9,1
Échantillon 9	Élevé	180	0,60	0,04	7,5	0,06	9,3	0,04	6,2	0,06	9,6	0,06	10,2
Échantillon 10	Négatif	180	0,25	0,03	11,5	0,04	14,6	0,03	10,1	0,04	15,2	0,04	15,8
Échantillon 11	Négatif	180	0,40	0,03	6,8	0,03	8,3	0,02	5,8	0,04	9,1	0,04	10,5
Échantillon 12	Négatif	180	0,30	0,02	7,7	0,03	9,7	0,02	7,4	0,03	10,3	0,03	10,9
Contrôle	Négatif	180	0,16	0,01	7,9	0,02	10,7	0,01	8,7	0,02	11,5	0,02	11,7
Étalonneur	Positif	180	2,34	0,12	5,3	0,13	5,5	0,03	1,4	0,13	5,6	0,13	5,6
Contrôle	Positif	180	4,23	0,26	6,0	0,28	6,6	0,12	2,8	0,34	8,0	0,34	8,1

Tableau 10 : Résultats de répétabilité

Échantillons		Taille de l'échantillon (n)	Moyenne de la VI	Dans la série		Dans la journée		Entre les séries		Total	
				ET	% CV	ET	% CV	ET	% CV	ET	% CV
Échantillon 1	Modérément +	80	2,34	0,09	4,1	0,18	7,5	0,17	7,3	0,22	9,3
Échantillon 2	Modérément +	80	2,38	0,10	4,2	0,17	7,0	0,16	6,8	0,22	9,3
Échantillon 3	Modérément +	80	2,28	0,09	4,1	0,17	7,4	0,16	7,0	0,22	9,5
Échantillon 4	Faiblement +	80	1,32	0,07	5,2	0,12	8,9	0,11	8,3	0,13	9,5
Échantillon 5	Faiblement +	80	1,38	0,07	5,4	0,10	7,1	0,07	5,3	0,13	9,1
Échantillon 6	Faiblement +	80	1,32	0,08	5,8	0,11	8,1	0,08	6,1	0,12	9,3
Échantillon 7	Négatif, proche du seuil	80	0,72	0,04	5,2	0,05	7,2	0,04	5,7	0,08	10,9
Échantillon 8	Élevé	80	0,65	0,03	4,2	0,05	7,3	0,04	6,8	0,08	12,3
Échantillon 9	Élevé	80	0,61	0,05	7,3	0,07	11,0	0,06	9,2	0,09	14,5
Échantillon 10	Négatif	80	0,26	0,02	7,2	0,03	13,4	0,03	13,1	0,05	18,7
Échantillon 11	Négatif	80	0,42	0,02	3,8	0,03	6,4	0,02	6,1	0,06	13,2
Échantillon 12	Négatif	80	0,32	0,03	7,9	0,04	11,5	0,03	8,7	0,06	20,0
Contrôle	Négatif	80	0,18	0,02	11,6	0,03	14,9	0,02	10,0	0,03	18,0
Étalonneur	Positif	80	2,34	0,19	7,9	0,20	8,5	0,09	4,0	0,23	9,8
Contrôle	Positif	80	4,41	0,15	3,4	0,31	6,9	0,31	6,9	0,34	7,7

f. Réactivité croisée :

Une étude a été menée pour évaluer la réactivité croisée avec le système de test ZEUS ELISA *Borrelia* VlsE1/pepC10 IgG/IgM en utilisant des sérums séropositifs aux IgG anti-capside du virus (VCA) d'Epstein-Barr (EBV), aux anticorps antinucléaires (ANA), à la syphilis, aux IgG anti-cytomégalovirus (CMV), aux IgM anti-CMV, aux IgG anti-rubéole, aux IgM anti-virus varicelle zona (VZV), aux IgG anti-toxoplasmes et au facteur rhumatoïde (FR). Des systèmes de test ELISA et des immunodosages sur microparticules fabriqués par différents laboratoires et distribués dans le commerce ont été utilisés afin de déterminer la séropositivité des échantillons. En outre, les échantillons provenant de patients ayant fait l'objet d'un diagnostic de polyarthrite rhumatoïde, de parvovirose, de fibromyalgie, de sclérose en plaques et d'infection à *Helicobacter pylori* ont été achetés dans le commerce. Dix échantillons correspondant à chaque réaction croisée éventuelle ont été testés. Les données sur la réactivité croisée sont récapitulées dans le Tableau 11 ci-dessous. Au total, 140 échantillons ont été testés concernant une éventuelle réactivité croisée avec 14 analytes. Trois des 140 échantillons ont obtenu un résultat positif. Des tests complémentaires effectués par Western blot ont révélé que l'un des échantillons positifs à *Helicobacter pylori* était positif par immunotransfert (IgM faible), et l'autre échantillon était négatif par immunotransfert. L'échantillon positif pour le parvovirus a été négatif par immunotransfert. Une certaine activité anti-*Borrelia* a été indiquée, mais deux échantillons sur trois n'ont pas répondu aux critères de positivité du deuxième niveau.

Tableau 11 : Résultats de réactivité croisée

Agents de réactivité croisée potentielle	Résultats positifs/nombre d'échantillons testés
IgG anti-VCA EBV	0 / 10
ANA	0 / 10
Syphilis	0 / 10
IgG anti-CMV	0 / 10
IgM anti-CMV	0 / 10
IgG anti-rubéole	0 / 10
IgG anti-toxo	0 / 10
IgM anti-VZV	0 / 10
FR	0 / 10
PR	0 / 10
Parvovirus	1 / 10
Fibromyalgie	0 / 10
Sclérose en plaques	0 / 10
<i>H. pylori</i>	2 / 10

g. Substances interférentes :

L'effet de substances potentiellement interférentes a été déterminé sur des échantillons en utilisant le dispositif expérimental sur l'albumine, la bilirubine, le cholestérol, l'hémoglobine, les triglycérides et les intralipides. Les quantités de l'analyte de chaque substance interférente potentielle ont été les suivantes :

- Bilirubine : 1 mg/dl (faible), 15 mg/dl (élevé)
- Albumine : 3,5 g/dl (faible), 5 g/dl (élevé)
- Cholestérol : 150 mg/dl (faible), 250 mg/dl (élevé)
- Triglycérides : 150 mg/dl (faible), 500 mg/dl (élevé)
- Hémoglobine : 10 g/dl (faible), 20 g/dl (élevé)
- Intralipides : 300 mg/dl (faible), 750 mg/dl (élevé)

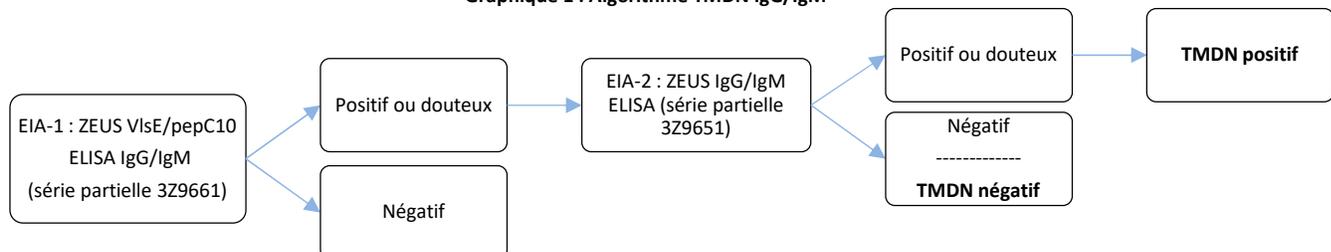
Trois échantillons ont été choisis sur la base de leurs performances sur le système de test ZEUS ELISA *Borrelia* VlsE1/pepC10 IgG/IgM : positif, limite et négatif. Les échantillons ont été exposés aux substances interférentes éventuelles, puis testés. Tous les échantillons positifs ont montré un changement de signal inférieur à 15 %. Tous les échantillons limites ont montré un changement de signal inférieur à 15 %, sauf les échantillons comportant une concentration faible ou élevée d'hémoglobine, qui ont montré une réduction du signal supérieure à 15 % (respectivement 16,5 % et 17,3 %). Tous les échantillons négatifs ont montré un changement de signal inférieur à 15 %, sauf l'échantillon comportant une faible concentration d'hémoglobine, qui a montré une réduction de signal de 22,2 %.

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

Les études suivantes ont été menées afin de déterminer les performances du système de test ZEUS ELISA *Borrelia* VlsE1/pepC10 IgG/IgM comme dosage de premier niveau dans le protocole de test modifié à deux niveaux (TMDN) ou 2-EIA.

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

Graphique 1 : Algorithme TMDN IgG/IgM



Étude de 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, le système de test ZEUS ELISA IgG/IgM VlsE1/pepC10 de *Borrelia*. Il a été obtenu 160 résultats positifs et 6 résultats douteux. Dans le protocole TSDN, les échantillons positifs ou douteux (n = 166) ont été testés par Western blot vis-à-vis des IgM et/ou des IgG anti-*B. burgdorferi*. Dans le protocole TMDN-IgG/IgM, les échantillons (n = 166) ont été testés avec un deuxième EIA, le système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgG/IgM. 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). Le Tableau 12 montre les résultats du protocole TMDN-IgG/IgM par rapport au protocole TSDN.

Tableau 12 : Comparaison des résultats des protocoles TMDN-IgG/IgM et TSDN (IgG et/ou IgM) 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/IgM	TMDN-IgG/IgM	TSDN-IgG/IgM	TMDN-IgG/IgM	TSDN-IgG/IgM	TMDN-IgG/IgM	TSDN-IgG/IgM	TMDN-IgG/IgM	TSDN-IgG/IgM	TMDN-IgG/IgM
Positif	38	47	34	37	50	50	0	0	0	2
Négatif	22	13	22	19	0	0	100	100	90	88
Sensibilité ou PCP	63,3 %	78,3 %	60,7 %	66,1 %	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 %	97,8 %

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 13 ci-dessous :

Tableau 13 : 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, le système de test ZEUS ELISA IgG/IgM VlsE1/pepC10 de *Borrelia*. 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 IgM et/ou des IgG anti-*B. burgdorferi*. Dans le protocole TMDN-IgG/IgM, les échantillons (n = 421) ont été testés avec un deuxième ELISA, le système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgG/IgM. 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. Un résumé des résultats obtenus avec le protocole TSDN vs TMDN-IgG/IgM est présenté dans le Tableau 14 ci-dessous :

Tableau 14 : Protocole TMDN-IgG/IgM comparé au protocole TSDN (IgG et/ou IgM) dans la cohorte prospective

TMDN-IgG/IgM	TSDN (IgG et/ou IgM)			
		Positif	Négatif	Total
	Positif	167	63**	230
Négatif	12*	2 690	2 702	
Total	179	2 753	2 932	

Concordance positive : 93,3 % (167/179) IC à 95 % : 88,6 – 91,6 %

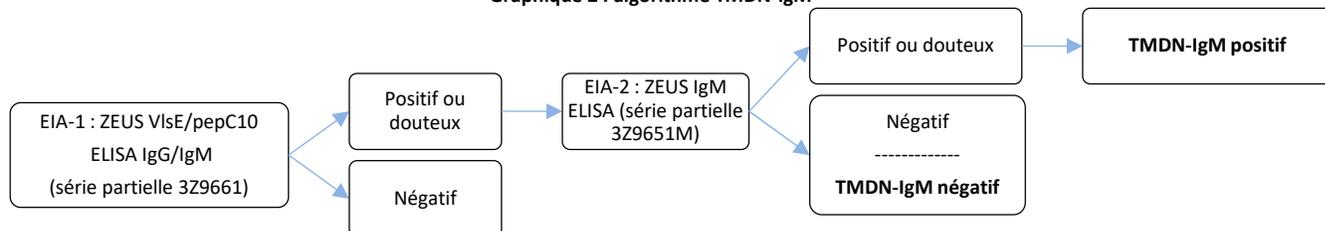
Concordance négative : 97,7 % (2 690/2 753) IC à 95 % : 97,1 – 98,2 %

* Parmi les 12 échantillons positifs avec le TSDN et négatifs avec le TMDN, l'un des 12 a été confirmé comme étant un cas de maladie de Lyme de stade 1. Aucune information clinique n'était disponible pour un échantillon, et les 10 autres ne présentaient aucune information clinique concordante avec une maladie de Lyme.

** Parmi les 63 échantillons positifs avec le TMDN et négatifs avec le TSDN, quatre échantillons provenaient de cas confirmés de maladie de Lyme (trois de stade 1 et une maladie tardive). Aucune information clinique n'était disponible pour trente-deux échantillons, et les vingt-sept autres ne présentaient aucune information clinique concordante avec une maladie de Lyme.

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

Graphique 2 : algorithme TMDN-IgM



Étude de 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, le système de test ZEUS ELISA IgG/IgM VlsE1/pepC10 de *Borrelia*. Il a été obtenu 160 résultats positifs et 6 résultats douteux. Dans le protocole TSDN, les échantillons positifs ou douteux (n = 166) ont été testés par Western blot vis-à-vis des IgM anti-*B. burgdorferi*. Dans le protocole TMDN-IgM, les échantillons (n = 166) ont été testés avec un deuxième EIA, le système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgM. 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). Le Tableau 15 montre les résultats du protocole TMDN-IgM par rapport au protocole TSDN.

Tableau 15 : Comparaison des protocoles TMDN-IgM et TSDN (IgM) Résultats d'une cohorte rétrospective

	Stade I (n = 60)		Stade II (n = 56)		Stade III (n = 50)		Contrôles sains (n = 100)		Contrôles pathologiques (n = 90)	
	TSDN-IgM	TMDN-IgM	TSDN-IgM	TMDN-IgM	TSDN-IgM	TMDN-IgM	TSDN-IgM	TMDN-IgM	TSDN-IgM	TMDN-IgM
Positif	28	46	28	42	8	36	0	0	0	2
Négatif	32	14	28	14	42	14	100	100	90	88
Sensibilité ou PCP	46,7 %	76,7 %	50,0 %	75,0 %	16,0 %	72,0 %	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 %	97,8 %

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. Les trois sites et leurs nombres correspondants d'échantillons sont récapitulés dans le Tableau 13.

Initialement, les 2 932 échantillons prospectifs ont été testés avec le dosage de premier niveau, le système de test ZEUS ELISA IgG/IgM VlsE1/pepC10 de *Borrelia*. 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 IgM anti-*B. burgdorferi*. Dans le protocole TMDN-IgM, les échantillons (n = 421) ont été testés avec un deuxième ELISA, le système de test ZEUS ELISA *Borrelia burgdorferi* IgM. 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 (IgM). Un résumé des résultats obtenus avec le protocole TSDN (IgM) vs TMDN-IgM est présenté dans le Tableau 16 ci-dessous :

Tableau 16 : Protocole TMDN-IgM comparé au protocole TSDN (IgM) dans la cohorte prospective

TMDN-IgM	TSDN (IgM)		
	Positif	Négatif	Total
Positif	101	126**	227
Négatif	4*	2 701	2 705
Total	105	2 872	2 932

Concordance positive : 96,2 % (101/105) IC à 95 % : 90,6 – 98,5 %

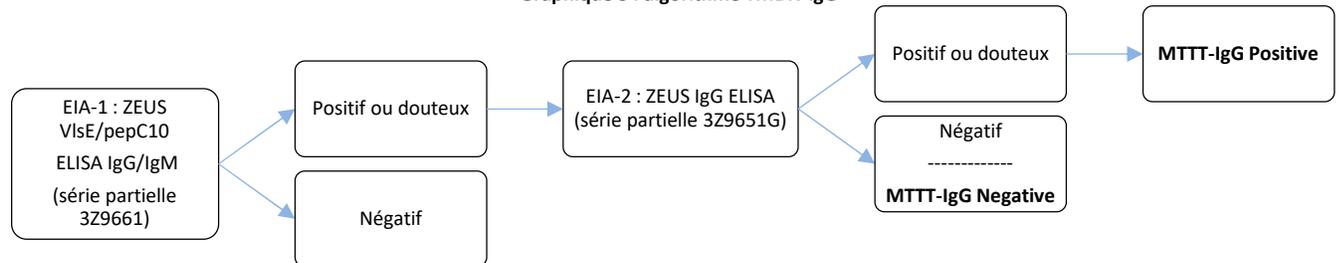
Concordance négative : 95,5 % (2 701/2 827) IC à 95 % : 94,7 – 96,2 %

* Parmi les quatre échantillons positifs au protocole TSDN-IgM et négatifs au protocole TMDN-IgM, trois d'entre eux ne disposaient d'aucune information clinique concordant avec une maladie de Lyme, et aucune information clinique n'était disponible pour le dernier.

** Parmi les 126 échantillons positifs au protocole TMDN-IgM et négatifs au protocole TSDN-IgM, 28 échantillons ne disposaient d'aucune information clinique concordant avec une maladie de Lyme, deux présentaient des preuves d'une infection antérieure, cinq disposaient d'informations cliniques conformes à une maladie de Lyme de stade 1 et aucune information clinique n'était disponible pour les 91 autres.

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

Graphique 3 : algorithme TMDN-IgG



Étude de 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, le système de test ZEUS ELISA IgG/IgM VlsE1/pepC10 de *Borrelia*. Il a été obtenu 160 résultats positifs et 6 résultats douteux. Dans le protocole TSDN-IgG, les échantillons 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, le système de test ZEUS ELISA *Borrelia 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). Le Tableau 17 montre les résultats du protocole TMDN-IgG par rapport au protocole TSDN-IgG.

Tableau 17 : Comparaison des protocoles TMDN-IgG et TSDN (IgG) Résultats d'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 %

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. Les trois sites et leurs nombres correspondants d'échantillons sont récapitulés dans le Tableau 13.

Initialement, les 2 932 échantillons prospectifs ont été testés avec le dosage de premier niveau, le système de test ZEUS ELISA IgG/IgM VlsE1/pepC10 de *Borrelia*. 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, le système de test ZEUS ELISA *Borrelia 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). Un résumé des résultats obtenus avec le protocole TSDN (IgG) vs TMDN-IgG est présenté dans le Tableau 18 ci-dessous :

Tableau 18 : protocole TMDN-IgG comparé au protocole TSDN (IgG) dans la cohorte prospective

TMDN-IgG	TSDN (IgG)		
	Positif	Négatif	Total
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 1 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 1 et aucune information clinique n'était disponible pour les 48 autres.

RÉFÉRENCES

1. Steere AC, Taylor E, Willson ML, Levine JF, Spielman A. Longitudinal assessment of the clinical and epidemiological features of Lyme Disease in a defined population. *J Infect Dis* **1986**; 154:295-300.
2. Rosenfeld ME, Nowakowski J, McKenna DF, Carbonaro CA, Wormser GP. Serodiagnosis in early Lyme disease. *J Clin Microbiol* **1993**; 31:3090-3095
3. Steere AC, Grodzicki RL, Komblatt AN, Craft JE, Barbour AG, Burgdorfer W, Schmid GP, Johnson E, Malawista SE. The spirochetal etiology of Lyme disease. *N Engl J Med* **1983**;308:733-740.
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.* **1997**;35:537-543.
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. 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.
9. Branda JA, Linskey K, Kim YA, Steere AC, Ferrano MJ. 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.
10. Mollins CR, Delorey MJ, Sexton C, Schriefer ME. 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.
11. Branda JA, *et al.* Advances in Serodiagnostic Testing for Lyme Disease Are at Hand. *Clin Infect Dis* **2018** Mar 19;66(7):1133-1139



ZEUS Scientific, Inc.

200 Evans Way, Branchburg New Jersey 08876, USA

Numéro gratuit (valable aux USA uniquement) : 1-800-286-2111, option 2

International : +1 908-526-3744

Fax : +1 908-526-2058

Site Internet : www.zeusscientific.com

ZEUS ELISA et SAVE Diluent® sont des marques déposées de ZEUS Scientific, Inc.

Ce produit utilise (en partie) une technologie sous licence accordée à ZEUS Scientific par

le Board of Regents of the University of Texas System. Cette

technologie est protégée par les brevets américains suivants : 6,437,116/6,740,744

6,719,983/7,135,176/8,071,109/8,354,240/7,847,084/8,076,470/8,283,458.

Système de test ZEUS *Borrelia* VlsE1/pepC10 IgG/IgM

Si vous souhaitez bénéficier d'une assistance clientèle aux États-Unis, veuillez contacter votre distributeur local.

Si vous avez besoin d'assistance technique aux États-Unis, veuillez appeler ZEUS Scientific au numéro gratuit ou envoyer un courriel à support@zeusscientific.com.

Pour les demandes d'assistance clientèle ou technique hors des États-Unis, veuillez contacter votre distributeur régional.

© 2021 ZEUS Scientific, Inc. Tous droits réservés.

10



EMERGO EUROPE
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

(Date de rév. 05/27/2021)