



Agence française de sécurité sanitaire
des produits de santé

Direction de l'Evaluation des Dispositifs Médicaux
Département Surveillance du Marché
Unité Evaluation et Contrôle du Marché-DIV

**Protocole de Contrôle du marché
des réactifs de type ELISA et assimilés
utilisés dans la recherche des anticorps anti-*Treponema pallidum*
(Syphilis) de type IgG et Totaux sur sérum ou plasma
(Version 20 juillet 2004)**

Objectifs :

- Comparer les tests immunochromatographiques rapides (TDR) (nouvellement arrivés sur le marché) aux techniques ELISA (EIA) classiques.
- Confirmer la sensibilité et spécificité de l'ensemble des Dispositifs Médicaux de Diagnostic In Vitro (DMDIV) participants.
- Valider la limite de détection analytique de l'ensemble des DMDIV sur un panel de référence.
- Rechercher un éventuel phénomène de zone.
- Profil des trousse vis-à-vis de 10 échantillons positifs en sérologie de Lyme.

Rappel de la nomenclature des actes de biologie médicale :

Dépistage : 2 réactions obligatoires dont au moins une de chaque groupe :

- groupe 1: VDRL latex
 VDRL coloré
 VDRL Charbon
- groupe 2 : TPHA,
 EIA
 FTA abs

Cotation : B 20 + titrage si positif + IgM

Deux questions se posent alors :

- Place des TDR par rapport aux EIA, les performances sont elles équivalentes ?
- Place du réactif d'immuno analyse sur gel avec particules recouvertes d'Ag recombinants de la société Diamed (seul réactif utilisant cette technologie).

1. Echantillons

a. Panel d'échantillons natifs

Un panel d'échantillon a été défini comme suit par le groupe d'expert :

Echantillons Positifs n=50	Echantillons Négatifs n =50
---------------------------------------	----------------------------------------

30 VDRL- TPHA + (10 faibles,10 moyens,10 forts) 20 VDRL+ TPHA + (10 faibles et moyens, 10 forts)	30 vrais négatifs VDRL- TPHA - 10 VDRL + TPHA – (FTA Abs -) 10 Lyme positifs
-----------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------

Il est constitué de 100 échantillons de sérum. Ces échantillons sont codés.

Les échantillons sont issus de l'hôpital Cochin et ont été initialement sélectionnés à l'aide des trousse TPHA Bayer et VDRL Bio-Rad.

Il s'agit d'échantillons documentés pour la majorité des sérums :- un argumentaire biologique (antécédents) et / ou clinique valide clairement le sérum.

En cas de problème détecté sur un échantillon non argumenté cliniquement, une enquête sera faite a posteriori.

Ces sérums étaient conservés en sérothèque à – 80°C sous un volume d'au moins 3,5 ml. Après avoir été retenu pour le panel, ces échantillons ont été aliquotés de sorte à réaliser la totalité de l'évaluation.

Il comporte :

- **50** échantillons documentés **positifs** répartis en 5 catégories

Catégorie 1 : VDRL nég, TPHA 1/80 et 1/160 : 10 sérums

Dont

3 FTA positifs, 2 douteux et 5 FTA négatifs

5 TPHA au 1/80 ; 5 TPHA au 1/160

Catégorie 2 : VDRL nég, TPHA 1/320-1/640 : 10 sérums

Dont

1 syphilis précoce, VIH+

1 syphilis latente tardive

6 TPHA 1/320; 4 TPHA 1/640

Catégorie 3 : VDRL nég, TPHA 1/1280 et plus : 10 sérums

Dont

5 FTA positifs, 3 FTA douteux, 2 FTA négatifs

1 TPHA 1/5120; 2 TPHA 1/2560; 7 TPHA 1/1280

Catégorie 4 : VDRL pos, TPHA 1/80 à 1/640 : 10 sérums

Dont

9 FTA positifs, FTA douteux

3 syphilis secondaires, VIH +

2 syphilis précoces, VIH +

1 TPHA 1/80,1 TPHA 1/160, 4 TPHA 1/320, 4 TPHA 1/640

Catégorie 5 : VDRL pos, TPHA 1/1280 et plus : 10 sérums

Dont

Tous FTA positifs

2 syphilis latente précoces, VIH +

1 syphilis latente précoce, VIH-

1 syphilis secondaire, VIH -

2 TPHA 1/20480 ; 2 TPHA 1/10240 ; 4 TPHA 1/5120 ; 2 TPHA 1/1280

- **50 échantillons négatifs**

Catégorie 6 : VDRL nég, TPHA nég : 30 sérums

Catégorie 7 : VDRL + TPHA – (FTA Abs -) : 10 sérums

Catégorie 8 : Lyme positifs : 10 sérums

b. Standard international (OMS)

Le standard OMS est la « 1^{re} préparation de référence 1958 ». L'ampoule contient 49 UI dans un volume final de 2 ml et a été évaluée à un titre équivalent en TPHA de 1/5120. (*Le pharmacien biologiste Tome XV N°132 121-124*).

Il a été commandé 2 ampoules auprès du NIBSC (distributeur pour l'OMS) à partir desquelles seront réalisées 8 dilutions dans un même sérum négatif en anticorps anti *Treponema pallidum*.

équivalent TPHA	5120	320	160	80	40	20	2	0.2
UI /ml	49	3,062	1,531	0,7655	0,3827	0,1913	0,019	0,0019

Cette gamme sera testée sur tous les réactifs participants à l'étude dans les laboratoires de l'Afssaps et sera préalablement évaluée par 3 experts du groupe de travail avec les réactifs TPHA et VDRL habituellement utilisés dans leur laboratoire respectif.

2. Modalités de l'expertise

Le protocole de la notice doit être respecté. Les résultats sont exprimés sous forme qualitative et/ou semi quantitative assortis de l'interprétation conformément à la notice d'utilisation.

Les résultats codés sont rendus selon un bordereau de rendu de résultats prédéfini.

a. Panel d'échantillons natifs

Les 100 échantillons du panel sont testés en simple dans le laboratoire de l'Afssaps sur la totalité des dispositifs. Pour les tests à lecture subjective, les échantillons seront évalués en simple mais lus par 2 lecteurs indépendants. En cas de résultats douteux, l'évaluateur se réserve la possibilité de retester le sérum posant problème.

b. Standard international OMS

Les 8 points de la gamme sont testés en double dans le laboratoire de l'Afssaps sur la totalité des dispositifs participants.

3. Critères d'acceptabilité

a. Panel d'échantillons natifs

Compte tenu des caractéristiques du panel et en dehors des sérums de la catégorie 8 (sérums positifs en sérologie de Lyme) qui seront analysés à part, il sera accepté au maximum :

Parmi les 50 échantillons positifs :

1 résultat faussement négatif pour les 10 sérums de la catégorie 1.
Aucun résultat faussement négatif pour les 40 sérums des catégories 2 ;3 ;4 et 5

Parmi les 40 échantillons négatifs (hors Lyme) :
2 résultats faussement positifs pour les 10 sérums de la catégories 6 et les 30 sérums de la catégorie 7.

Le panel constitué pour cette étude pourra au besoin faire l'objet de quelques réajustements sur le positionnement des échantillons en fonction des résultats obtenus par l'ensemble des trousse. En cas de discordances répétées pour un même échantillon (c'est à dire au moins 4 réactifs discordants dont au moins 2 ELISA), cet échantillon sera éliminé du panel pour l'ensemble des réactifs testés.

b. Echantillons positifs en sérologie de Lyme

La réactivité des trousse par rapport aux 10 échantillons de patients atteints de Lyme sera étudiée. Les performances des trousse seront comparées entre elles. Des critères d'acceptabilité seront définis au regard de l'ensemble des résultats trouvés.

c. Standard international

Les réactifs devront trouver positifs les échantillons de concentrations supérieures à la limite de détection annoncée dans la notice pour au moins un des doublets.

4. Evaluations des notices :

L'ensemble des notices sera évalué selon les exigences essentielles requises dans la directive 98/79 CE.

En fonction des résultats de l'évaluation des notices et du contrôle analytique du marché, il est possible que des ajouts de mentions spécifiques soient demandés dans les notices d'utilisation des réactifs.

5. Confidentialité.

L'évaluation doit obéir aux règles strictes de la confidentialité. Les résultats restent propriété de l'industriel et de l'Afssaps.

6. Publication des résultats.

Les résultats feront l'objet d'une publication sur le site internet de l'Afssaps.
Une publication à la RICAI (Réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse) sous forme d'un poster et / ou dans une revue de biologie médicale est envisagée.
Une information des différentes autorités compétentes européennes sera réalisée.

7. Liste des experts

- Hôpital Cochin
Service de bactériologie-virologie du **Professeur Claire Poyart** :
27 rue du faubourg Saint Jacques
75679 Paris cedex 14
Dr Nadjat Benhaddou
Dr Marc Assous

- LABM LCL Ivry
78 avenue de Verdun
94200 Ivry sur seine
Dr Anne Ebel

- LABM Départemental
41 avenue de Verdun
93140 Bondy
Dr Anne Bianchi

- Hôpital Tarnier Cochin
Service de dermatologie et MST :
89 rue d'Assas 75006 Paris
Pr Nicolas Dupin

- Afssaps : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé
DEDIM / UECM-DIV (unité évaluation et contrôle du marché DIV)
143-147 Bd Anatole France
93285 Saint –Denis cedex
Dr Natacha Charlier-Bret
Dr Gaëlle LeBrun
Mme Béatrice Boucher

