

INTENDED USE

Le système de test ZEUS ELISA de dépistage d'ENA est un test de dépistage qualitatif conçu pour détecter des anticorps dirigés contre des antigènes nucléaires extractibles (ENA) présents dans le sérum humain. Lorsqu'il est utilisé conformément aux instructions jointes, ce système de dépistage est capable de détecter tous les anticorps anti-ENA communément recherchés, tels que ceux dirigés contre les antigènes Jo-1, Sm, Sm/RNP, SSA, SSB et Scl-70. Cette trousse de réactifs est réservée à un usage diagnostique *in vitro*.

SIGNIFICATION ET CONTEXTE

Il est clair, depuis ces dernières années, que les autoanticorps dirigés contre certains constituants du noyau ont prouvé leur utilité dans le diagnostic des connectivites. Les autoanticorps dirigés contre Jo-1 appartiennent à la famille des anticorps spécifiques retrouvés chez les patients atteints de myosite (19). Ces autoanticorps, spécifiques des myosites, sont très fréquemment associés par les scientifiques aux atteintes pulmonaires interstitielles (10). Les médecins considèrent que les anticorps dirigés contre le marqueur Sm constituent un critère de diagnostic du Lupus Erythémateux Disséminé (LED) à cause de leur degré élevé de spécificité chez les patients atteints de LED (1, 2). La présence isolée d'un taux élevé d'anticorps anti-RNP est considérée comme un critère diagnostique de la connectivite mixte et est souvent associée à une évolution bénigne de la maladie(3), tandis que les patients qui ont un taux faible d'anticorps anti-RNP, associé à d'autres autoanticorps sont souvent porteurs d'une sclérose systémique, d'un syndrome de Sjögren ou d'une polyarthrite rhumatoïde. La présence d'anticorps anti-RNP chez les patients atteints de LED est souvent associée à un faible pourcentage d'atteinte rénale et à une évolution bénigne de la maladie. Au contraire, les patients porteurs d'anti-Sm ont plus souvent des complications rénales ou du système nerveux central (4). Des études ont révélé que des autoanticorps dirigés contre SSA et SSB peuvent être observés chez les patients atteints de LED (5-6) ou du syndrome de Sjögren (7-9). Les anticorps anti-SSA sont souvent présents chez les patients atteints de LED avec des anticorps anti-nucléaires (ANA en anglais) négatifs comme dans les formes cutanées subaiguës de lupus érythémateux (12), ou les syndromes de type lupus avec déficits homozygotes en C2 (13) ou chez un groupe de patients sans anticorps anti-ADN natif (11). Les anticorps anti-Scl-70 sont très spécifiques de la sclérodémie (11). Des recherches ont également permis de les observer chez une minorité de patients atteints de LED. L'évolution de la maladie, chez les patients atteints de sclérodémie avec des anticorps anti-Scl-70 positif, est souvent plus sévère avec une atteinte viscérale diffuse et une atteinte cutanée modérée (14). Les scientifiques découvrent rarement des anticorps anti-Scl-70 dans d'autres maladies auto-immunes, de sorte que leur découverte au décours d'un syndrome de Raynaud est très significative (15). Le tableau suivant résume les divers auto-anticorps mentionnés ci-dessus pouvant être associés à des maladies (16) :

Anticorps	État de la maladie	Fréquence relative de détection d'anticorps (%)
Anti-Jo-1	Myosite	25 – 44 % (19)
Anti-Sm	LED	30*
Anti-RNP	Connectivite mixte, LED	100** et > 40, respectivement
Anti-SSA (Ro)	LED, syndrome de Sjögren	15 et 30 - 40, respectivement
Anti-SSB (La)	LED, syndrome de Sjögren	15 et 60 - 70, respectivement
Anti-Scl-70	sclérose systémique	20 - 28*

*Hautement spécifique

** Hautement spécifique lorsque présent seul en titre élevé.

Jusqu'à tout récemment, le dépistage des anticorps s'est effectué individuellement en immunofluorescence indirecte, en immunodiffusion radiale (Ouchterlony), en hémagglutination, en radio-immunologie ou en immunoenzymologie (ELISA). Contrairement à d'autres techniques, la méthode ELISA offre une méthode sensible, objective, rapide et donc adaptée au dépistage des anticorps ENA dans un nombre important d'échantillons. L'étiologie exacte des maladies auto-immunes est inconnue et le rôle spécifique des autoanticorps à l'apparition des connectivites autoimmunes est obscur. Le système ZEUS ELISA de dépistage d'ENA offre une procédure efficace de dépistage en laboratoire des patients potentiellement atteints de connectivite, grâce à l'association et à la fréquence de détection de ces anticorps.

PRINCIPE DU TEST

Le système ZEUS ELISA de dépistage d'ENA a été conçu pour la détection d'anticorps de classe IgG contre une variété d'antigènes nucléaires courants dans le sérum sanguin humain. Les puits des barrettes à micro-puits plastiques sont sensibilisés par une absorption passive d'antigène ENA. La procédure de test comprend trois étapes d'incubation :

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

COMPOSANTS DU SYSTÈME DE TEST

Matériel inclus :

Chaque système de test contient les composants suivants en quantité suffisante pour réaliser le nombre de tests indiqué sur l'étiquette du conditionnement.

REMARQUE : Les composants suivants contiennent de l'azote de sodium comme agent de conservation sous une concentration inférieure à 0,1 % (volume d'eau) : contrôles, étalon et SAVE Diluent®.

PLATE	1. Plaque : 96 puits configurés en douze bandes de 8 puits, enduits d'antigène ENA. Les bandes sont emballées dans un porte-bandes et placées avec du desséchant dans une enveloppe hermétiquement fermée.
CONJ	2. Conjugué : Solution d'immunoglobulines de chèvre anti-IgG humaines conjuguée à de la peroxydase du raifort (spécifique à la chaîne Fc). 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. SAVE Diluent® : Un flacon de 30 ml à bouchon vert contenant du Tween-20, de l'albumine de sérum bovin et tampon phosphate salin (pH 7,2 ± 0,2). Prêt à l'emploi. REMARQUE : La solution SAVE Diluent® change de couleur lorsqu'elle est combinée à du sérum.
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. La solution SAVE Diluent® peut être interchangeé dans n'importe quel système de test ZEUS ELISA avec le produit n° 005CC.
2. Le système de test contient également une étiquette de composant contenant des informations spécifiques de lot à l'intérieur de la boîte du système de test.

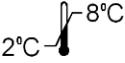
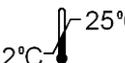
PRÉCAUTIONS

1. Pour utilisation diagnostique *in vitro* uniquement.
2. Observer les précautions normalement applicables lors de toute manipulation de réactif de laboratoire. En cas de contact oculaire, rincer immédiatement les yeux avec beaucoup d'eau et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés, ainsi que des gants et une protection des yeux/du visage. Ne pas respirer les vapeurs de ce produit. Jeter conformément à toutes les lois applicables.
3. Les puits de la plaque ELISA ne contiennent pas d'organismes viables. Cependant, les bandes doivent être considérées comme des **matériaux biologiques dangereux** et être manipulées en conséquence.
4. Les solutions de contrôle sont des **matériaux biologiques dangereux**. Les matériaux d'origine de ces produits ont fait l'objet de tests approuvés n'ayant révélé aucune présence d'antigène du VIH-1, de HBsAg et d'anticorps contre le VHC et le VIH. Cependant, puisqu'aucune méthode de test n'offre une garantie absolue d'absence de tout agent infectieux, ces produits doivent être manipulés selon les consignes du niveau 2 de biosécurité, conformément aux recommandations applicables aux échantillons de sang et aux sérums humains potentiellement infectieux dans le manuel des centres américains de contrôle des maladies intitulé « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories » (dernière édition) et conformément aux normes de l'OSHA concernant les agents pathogènes sanguins (20).
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. La solution SAVE Diluent®, 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, solution SAve Diluent®
	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

- 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).
- 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.
- Utiliser uniquement du sérum sanguin fraîchement prélevé et correctement réfrigéré, obtenu selon la procédure de ponction veineuse aseptique de cette analyse (17, 18). 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.
- 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 (21).

PROCÉDURE D'ESSAI

- Sortir les composants de leur lieu de stockage et laisser les composants se réchauffer à température ambiante (20 – 25 °C).
- 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	

- Préparer une dilution 1:21 (p. ex. 10 µl de sérum + 200 µl de SAve Diluent®) de contrôle négatif, d'étalon, de contrôle positif et de sérum de chaque patient. **REMARQUE : La solution SAve Diluent® changera de couleur pour confirmer que l'échantillon a été combiné avec le diluant.**
- 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.
- Ajouter 100 µl de solution SAve Diluent® dans le puits A1 comme blanc réactif. Vérifier les exigences de logiciel et de lecteur pour connaître les configurations appropriées de puits de blanc réactif.
- Incuber la plaque à température ambiante (20 – 25 °C) pendant 25 ± 5 minutes.
- Laver les bandes de micropuits 5 fois.
 - Procédure de lavage manuel :**
 - Secouer vigoureusement pour faire sortir le liquide des puits.
 - Remplir chaque micropuits de tampon de lavage. S'assurer qu'aucune bulle d'air n'est emprisonnée dans les puits.
 - Répéter les étapes 1 et 2 jusqu'à un total de 5 lavages.
 - 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.
 - 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.
- Ajouter 100 µl de conjugué dans chaque puits, y compris dans le puits de blanc réactif, à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons.
- Incuber la plaque à température ambiante (20 – 25 °C) pendant 25 ± 5 minutes.
- Laver les micropuits conformément à la procédure décrite dans l'étape 7.
- Ajouter 100 µl de TMB dans chaque puits, y compris dans le puits de blanc réactif, à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons.
- Incuber la plaque à température ambiante (20 – 25 °C) pendant 10 ± 15 minutes.
- Arrêter la réaction en ajoutant 50 µl de solution d'arrêt dans chaque puits, y compris dans le 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.
- Programmer le lecteur de micropuits pour lire avec une longueur d'onde de 450 nm et mesurer la densité optique de chaque puits par rapport au blanc réactif. Lire les résultats de la plaque moins de 30 minutes après avoir ajouté la solution d'arrêt.

RÉSUMÉ DE LA PROCÉDURE D'ANALYSE

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

CONTRÔLE DE QUALITÉ

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

	Plage DO
Contrôle négatif	≤0.250
Étalon	≥0.300
Contrôle positif	≥0.500

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

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

L'étalon de ce système de test a reçu un facteur de correction pour la génération de valeurs d'indice. D'après des tests réalisés sur des échantillons provenant de patients malades, une valeur unitaire maximale normale a été déterminée par le fabricant et corrélée à l'étalon.

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.
($FC \times DO \text{ moyenne de l'étalon} = \text{Valeur seuil de DO}$)
- c. *Rapports valeur d'indice/DO*: Calculer le rapport valeur d'indice/DO de chaque échantillon en divisant sa valeur de DO par la valeur seuil de DO de l'étape b.

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

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

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

- a. Un rapport de DO égal ou inférieur à 0,90 indique une absence d'anticorps IgG anti-ENA.
- b. Un rapport de DO égal ou supérieur à 1,10 indique une présence d'anticorps IgG anti-ENA.
- c. Refaire deux fois le test sur les échantillons lorsque les rapports de DO sont dans la zone d'ambivalence (0,91 – 1,09). Le résultat final sera obtenu dès que deux mesures concordantes seront observées. Évaluer répétitivement les échantillons ambivalents avec une autre méthode sérologique et/ou reprendre l'évaluation en prélevant d'autres échantillons une à trois semaines plus tard.

LIMITES DE L'ESSAI

1. Le système de test ZEUS ELISA de dépistage d'ENA est un outil d'aide au diagnostic et ne suffit pas pour poser un diagnostic définitif. Interpréter les résultats de test conjointement avec l'évaluation clinique et avec les résultats d'autres procédures de diagnostic.
2. Un résultat positif d'anticorps à ENA peut être obtenu chez des personnes apparemment saines. Il est donc essentiel que les résultats soient interprétés par une autorité médicale compétente en tenant compte des informations cliniques globales du patient.
3. Le système ZEUS ELISA de dépistage des anticorps ENA ne permet pas d'identifier le type spécifique des anticorps à ENA présents dans un échantillon positif. Les spécimens positifs seront testés pour chaque autoanticorps spécifique avec des systèmes de test spécifiques aux autoanticorps.

RÉSULTATS ESPÉRÉS

La valeur espérée pour un patient normal est un résultat négatif. Le nombre de sujets positifs et le degré de réactivité dépend de paramètres tels que le type de population sous traitement, la nature des traitements, etc. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence en fonction de sa population de patients. Le tableau de la partie « Signification et contexte » de la notice donne, en fonction des pathologies et de leur degré de réactivité, la fréquence relative des autoanticorps pour divers désordres rhumatismaux.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

1. Étude comparative :

Une étude clinique sur 176 échantillons de sérum a été réalisée avec le système ZEUS ELISA de dépistage d'ENA et d'autres systèmes de dépistage ELISA disponibles dans le commerce. La spécificité a été évaluée avec 61 échantillons de patients sains asymptomatiques du sud-est des États-Unis et la sensibilité a été évaluée avec 115 échantillons de sérum de donneurs malades du nord-est des États-Unis. Les résultats de cette étude sont résumés dans les tableaux 1 à 4.

Tableau 1 : Évaluation de la spécificité (n=61 sérums de donneurs sains)

		Système de test ZEUS ELISA de dépistage d'ENA			
		Positif	Négatif	Ambivalent ^a	Total
Test ELISA disponible dans le commerce	Positif	0	20 ^b	0	20
	Négatif	0 ^c	41	0	41
	Ambivalent ^a	0	0	0	0
	Total	0	61	0	61

^a Les échantillons ambivalents ont été exclus des calculs.

^b Les 20 échantillons ont été confirmés négatifs ANA.

^c Représente les échantillons ambivalents.

Spécificité relative = 100 % (41/41)

Tableau 2 : Évaluation de la sensibilité (n=115 échantillons provenant de patients malades)

		Système de test ZEUS ELISA de dépistage d'ENA			
		Positif	Négatif	Ambivalent ^a	Total
Test ELISA disponible dans le commerce	Positif	77	6 ^b	0	83
	Négatif	3	29	0	32
	Ambivalent*	0	0	0	0
	Total	80	35	0	115

^a Les échantillons ambivalents ont été exclus des calculs.

^b Représente les échantillons discordants (voir tableau 3).

Sensibilité relative = 93 % (77/83)

Tableau 3 : Résumé des échantillons ambivalents ; résultats ELISA

Numéro d'échantillon	Résultat ELISA ZEUS	Autre résultat ELISA	Résolution*
78	0,444/-	RNP +	RNP-nég. confirmé
83	0,562/-	Jo-1 +	Non résolu
85	0,569/-	SSA +	SSA-nég. confirmé
87	0,597/-	SSA +	SSA-nég. confirmé
89	0,687/-	RNP +	RNP-nég. confirmé
95	0,777/-	Sm, RNP, SSA +	ENA-nég. confirmé

* Confirmé au moyen d'un ou de tous les systèmes de test suivants :

1. Système de test ZEUS IFA ANA Hep-2
2. Système de test à immunodiffusion ZEUS Poly-ENA®
3. Système de test ZEUS ELISA ENA Profile-6

2. Reproductibilité :

La reproductibilité a été évaluée et mesurée suivant le protocole EP5-T2 : [Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices - Second Edition](#), publication du Comité national de chimie clinique pour les laboratoires (NCCLS). En résumé, six échantillons ont été testés, deux échantillons fortement positifs, deux échantillons modérément positifs et deux échantillons négatifs. Chaque échantillon a été analysé en double, deux fois par jour (le matin et l'après-midi) chaque jour. Le tableau 4 résume les résultats.

Tableau 4 : Résumé des tests de reproductibilité

ID	Rapport moyen	SWR ^a	ET ^b	Jours de test	% CV	Observations totales
1	12,16	0,58	1,12	20	9,17	80
2	9,72	0,78	1,05	20	10,80	80
3	4,48	0,54	0,56	20	12,44	80
4	4,21	0,53	0,73	19	17,39	76
5	0,41	0,07	0,15	19	S. O.	76
6	0,20	0,08	0,10	18	S. O.	72

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

^b Estimation ponctuelle de l'écart-type de précision totale.

3. Réactivité croisée :

Un ensemble de sérums, négatifs en IFA sur Hep2 vis à vis de ANA, et positifs vis à vis des IgG de différents antigènes (EBV-VCA, EBNA, HSV-1, HSV-2, CMV, Rubéole et/ou toxoplasmose) a été utilisé pour évaluer l'éventuelle réactivité croisée avec le système ZEUS ELISA de dépistage d'ENA. Tous les échantillons ont présenté un résultat négatif lors du test ELISA, ce qui signifie que la probabilité de réactivité croisée avec ces anticorps est minime, de sorte qu'aucune interférence avec les résultats obtenus n'est prévisible.

RÉFÉRENCES

1. Tan EM, Cohen AS, Fries J, *et al*: Special Article: The 1982 revised criteria for classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 25:1271-1277, 1982.
2. Beufels M, Kouki F, Mignon F, *et al*: Clinical significance of anti-Sm antibodies in systemic lupus erythematosus. *Am. J. Med.* 74:201-215, 1983.
3. Sharp GC, Irwin WS, Tan EM, Holman H: Mixed connective tissue disease. An apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *Am. J. Med.* 52: 148-159, 1972.
4. Winfield JB, Brunner CB, Koffler DB: Serological studies in patients with systemic lupus erythematosus and central nervous system dysfunction. *Arthritis Rheum.* 21:289-294, 1978.
5. Tan EM, Kunkel HG: Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* 96:464-471, 1966.
6. Maddison PJ, Mogavero H, Provost TT, Reichlin M: The clinical significance of autoantibodies to soluble cytoplasmic antigen in systemic lupus erythematosus and other connective tissue diseases. *J. Rheumatol.* 6:189-192, 1979.
7. Clark G, Reichlin M, Tomasi TB: Characterization of soluble cytoplasmic antigen reactive with sera from patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* 102:117, 1969.

8. Alexander E, Arnett FC, Provost TT, Stevens MB: The Ro(SSA) and La(SSB) antibody system and Sjögren's syndrome. *J. Rheum.* 9:239-246, 1982.
9. Alsbaugh MA, Talal N, and Tan E: Differentiation and characterization of autoantibodies and their antigens in Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.* 19:216-222, 1976.
10. Marguerie C, Bunn CC, Beynon HL, *et al*: Polymyositis, pulmonary fibrosis and autoantibodies to aminoacyl-tRNA synthetase enzymes. *Quart. J. Med.* 77:1019-1038, 1990.
11. Tan EM: Antinuclear antibodies: Diagnostic markers for autoimmune diseases and probes for cell biology. *Adv. Immunol.* 44:93-151, 1989.
12. Sontheimer RD, Thomas JR, Gilliam JN: Subacute cutaneous lupus erythematosus: A cutaneous marker for a distinct lupus erythematosus subset. *Arch. Derm.* 115:1409-1415, 1979.
13. Provost TT, Arnett FC, Reichlin M: Homozygous C2 deficiency, lupus erythematosus and anti Ro (SSA) antibodies. *Arth. Rheum.* Vol. 26, No. 10:1279-1282, 1983.
14. LeRoy EC, Black CM, Fleishmajer R, *et al*: Scleroderma (systemic sclerosis): Classification, subsets and pathogenesis. *J. Rheumatol.* 15:202-205, 1988.
15. Weiner ES, Hildebrandt S, Senecal JL, *et al*: Prognostic significance of anticentromere antibodies and anti-topoisomerase 1 antibodies in Raynaud's disease. A prospective study. *Arthritis Rheum.* 34:68-77, 1991.
16. Mongey AB, Hess EV: Antinuclear antibodies and disease specificity. *Advances in Int. Med.* 36 (1): 151-169, 1989.
17. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
18. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 2nd edition. Approved Standard (1984). Published by National Committee for clinical Laboratory Standards.
19. Sturgess A: Review; Recently characterized autoantibodies and their clinical significance. *Aust. N.Z., J. Med.* 22:279-289, 1992.
20. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. *Fed. Register* 56:64175-64182, 1991.
21. 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.

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.

