

UTILISATION PRÉVUE

Le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte**® EBV IgG Plus a été conçu pour la détection qualitative d'anticorps IgG dirigés contre trois antigènes distincts du virus d'Epstein-Barr (EBV-VCA gp-125, total EBV-EA et EBNA-1 recombinant) dans du sérum humain. Ce système de test doit être utilisé comme outil de diagnostic en laboratoire de la mononucléose infectieuse associée au virus d'Epstein-Barr (EBV en anglais) et comme source d'informations épidémiologiques sur la maladie provoquée par le virus d'Epstein-Barr. Les caractéristiques de performance de l'essai n'ont pas été établies pour les patients immunocompromis ou immunosupprimés, le sang de cordon ombilical, les prélèvements néonataux ou les nourrissons. Les caractéristiques de performance de l'essai n'ont pas été établies pour le diagnostic du cancer du nasopharynx, le lymphome de Burkitt et les autres lymphomes associés à l'EBV. Ce test a été conçu uniquement pour des diagnostics *in vitro*.

SIGNIFICATION ET CONTEXTE

Le virus d'Epstein-Barr (EBV) est un virus ubiquitaire humain responsable de la mononucléose infectieuse (MNI), une maladie auto-limitative lymphoproliférative (1). À l'âge adulte, presque tout le monde a été infecté et a développé une immunité contre ce virus. Dans les pays sous-développés, la séroconversion au virus a lieu dans la petite enfance et est généralement asymptomatique (2). Dans les pays plus riches, les infections EBV sont souvent retardées jusqu'à l'adolescence, voire plus tard, pour se manifester sous forme de MNI chez environ 50 % des personnes de ce groupe d'âge (3-5).

Après la séroconversion, symptomatique ou non, l'EBV provoque une infection latente chronique à lymphocytes B qui dure probablement toute la vie (6). L'EBV se réplique dans les cellules épithéliales oropharyngées et est présent dans la salive de la plupart des patients ayant une MNI (7). En outre, 10 à 20 % des personnes en bonne santé qui sont positives aux anticorps EBV excrètent le virus dans leurs sécrétions orales (6, 7, 8). La réactivation du porteur viral à l'état latent, comme en témoigne l'augmentation de l'excrétion virale, peut être induite par l'immunosuppression, la grossesse, la malnutrition ou la maladie (8, 9). Les infections chroniques par EBV, soient latentes ou actives, sont rarement associées à la maladie.

Le test de Paul-Bunnell-Davidsohn (détection d'anticorps hétérophiles) est hautement spécifique pour la MNI (10). Cependant, 10 à 15 % des adultes, et un pourcentage plus élevé d'enfants et de nourrissons avec des infections primaires à EBV, ne développent pas d'anticorps hétérophiles (11). Les tests sérologiques propres à l'EBV sont nécessaires pour différencier les primo-infections à EBV qui sont hétérophiles négatives des maladies de type mononucléose provoquées par d'autres agents comme le cytomégalo virus, l'adénovirus et le *Toxoplasma gondii* (4).

Les titres d'anticorps contre les antigènes EBV spécifiques sont en corrélation avec les différentes étapes de la MNI (4, 10-12). Les deux anticorps IgM et IgG contre l'antigène de la capsid virale (VCA en anglais) atteignent un pic 3 à 4 semaines après l'infection à l'EBV. Les anticorps IgM anti-VCA déclinent rapidement et disparaissent généralement après 12 semaines. Les titres d'IgG anti-VCA diminuent lentement après avoir atteint un pic et peuvent durer indéfiniment. Les anticorps aux antigènes nucléaires EBV (EBNA) se développent de 1 à 6 mois après l'infection et, comme les anticorps IgG anti-VCA, ils persistent indéfiniment (11, 12). La présence d'anticorps anti-EBNA indique que l'infection est ancienne (11).

L'antigène précoce à EBV est fait de deux composants : une partie diffuse (D) et une partie restreinte (R) (dans cet essai, les parties EA/D et les EA/R sont distribuées à peu près également ; ici « EA » signifie « early antigen » en anglais). Les termes D et R reflètent les différents modèles de coloration par immunofluorescence exposés par les deux composants (13,14). Les anticorps dirigés contre les antigènes précoces EA peuvent apparaître de manière transitoire pendant une durée maximale de trois mois durant la phase aiguë de la MNI chez 85 % des patients (15). La réponse des anticorps à EA chez des patients atteints de MNI est en général contre le composant D, alors qu'une séroconversion asymptomatique à EBV durant l'enfance produit des anticorps contre le composant R (5,11).

PRINCIPE DU TEST

Le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** EBV IgG Plus a été conçu pour la détection d'anticorps de classe IgG contre une variété d'antigènes EBV dans le sérum sanguin humain. La procédure comprend deux étapes d'incubation :

1. Les échantillons de sérum à tester (correctement dilués) sont incubés dans un tube contenant un mélange de billes en suspension pour test multiplex. La suspension de billes contient un mélange de populations marquées de microsphères en polystyrène (billes) ; trois de ces populations de billes sont conjuguées avec les trois antigènes EBV (EBV-VCA, EBNA-1 et EBV-EA). S'ils sont présents dans le sérum du patient, les anticorps spécifiques se lieront à l'antigène fixé sur une ou plusieurs populations de billes. Les microsphères sont ensuite rincées pour éliminer les protéines sériques non-réactives.
2. Une solution d'IgG anti-humaine d'origine caprine conjuguée à de la phycoérythrine (PE) est ajoutée au micro-puits et la plaque est de nouveau incubée. Le conjugué va réagir avec les anticorps IgG fixés sur la phase solide au cours de l'étape 1. La suspension de billes est alors analysée par l'instrument **AtheNA Multi-Lyte**. La ou les population(s) de billes est/sont triée(s) (identifiée(s)) et l'on détermine pour chaque population de billes la quantité de molécules indicatrices (conjugué PE). À l'aide de la technologie d'étalonnage intra-puits (*Intra-Well Calibration Technology*®), les populations de billes d'étalonnage internes sont utilisées pour convertir la fluorescence brute en résultats numériques.

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) : suspension de billes, contrôles, conjugué et SAVE Diluent®.

SOLN	BEAD	Description
		1. Suspension de billes : La suspension contient des microsphères en polystyrène de 5,6 microns marquées qui sont conjuguées aux antigènes suivants : EBV-VCA gp125 purifié par affinité, EA recombinant et EBNA-1 recombinant. La suspension de billes contient également une population de billes pour la détection d'anticorps non spécifiques (s'il y en a) dans l'échantillon du patient et quatre populations de billes utilisées pour l'étalonnage de l'essai. Un flacon couleur ambre contenant 5,5 ml. Prêt à l'emploi.
		2. Conjugué : IgG anti-humaine d'origine caprine conjuguée à de la phycoérythrine (chaîne spécifique γ). Un flacon couleur ambre contenant 15 ml. Prêt à l'emploi.
CONTROL	+	3. Contrôle positif (sérum humain) : Une ampoule de 0,2 ml avec bouchon rouge.
CONTROL	-	4. Contrôle négatif (sérum humain) : Une ampoule de 0,2 ml avec bouchon vert.
DIL	SPE	5. SAVE Diluent® : Un flacon de 50 ml à bouchon vert contenant une solution de tampon phosphate salin. Prêt à l'emploi. REMARQUE : La solution SAVE Diluent® change de couleur lorsqu'elle est combinée à du sérum.
WASH BUFF	10X	6. Tampon de lavage concentré (10 x) : Dilution d'un volume de concentré dans neuf volumes d'eau distillée ou désionisée. Un flacon de 50 ml à bouchon transparent contenant une solution de tampon phosphate salin concentrée 10X.

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 **AtheNA Multi-Lyte** : tampon de lavage et SAVE Diluent®.
2. Le système de test contient également :

- a. une étiquette de composant contenant des informations spécifiques de lot à l'intérieur de la boîte du système de test.
- b. un CD d'étalonnage contenant des valeurs d'étalonnage spécifiques par lot, requises pour les analyses d'échantillons et le contrôle de qualité des essais, et des notices.
- c. une plaque de dilution de 96 puits.
- d. une plaque de filtration de 96 puits.

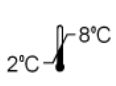
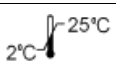
PRÉCAUTIONS

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. La suspension de billes du test **AtheNA Multi-Lyte** ne contient pas d'organismes vivants. Cependant, le réactif doit être considéré comme un **matériau biologique dangereux** et être manipulé comme tel.
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 (17, 18).
5. Pour obtenir des résultats exacts, il est essentiel de respecter les délais et les températures d'incubation. Vérifier que tous les réactifs sont équilibrés à température ambiante (20 à 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. Ne pas laisser les puits sécher entre les incubations.
7. La solution SAve Diluent®, la suspension de billes, les solutions de contrôle et le conjugué 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. Le tampon de lavage concentré est IRRITANT. Ce produit peut irriter les yeux, le système respiratoire et la peau.
9. La dilution et l'adultération de ces réactifs peuvent produire des résultats erronés.
10. Ne pas utiliser les réactifs d'autres fournisseurs ou fabricants.
11. Ne jamais pipeter à la bouche. Éviter tout contact de la peau ou des muqueuses avec des réactifs ou des échantillons humains.
12. Éviter toute contamination microbienne des réactifs. Des résultats incorrects pourraient survenir.
13. Toute contamination des réactifs ou des échantillons pourrait fausser les résultats.
14. Éviter les éclaboussures et la génération d'aérosols.
15. Ne pas exposer les réactifs à une lumière puissante durant leur stockage ou durant une incubation. La suspension de billes et le conjugué sont des réactifs photosensibles. Tous deux ont été conditionnés dans des emballages photoprotecteurs. Des niveaux normaux d'exposition à la lumière au cours de l'exécution de l'essai n'affecteront pas les performances de ce dernier. Ne pas exposer inutilement ces réactifs à des sources puissantes de lumière visible.
16. Récupérer la solution de lavage dans un bassin à résidu. 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.
17. Mise en garde : Avant d'ajouter une solution de javel, neutraliser les résidus liquides jusqu'à l'obtention d'un pH acide.
18. 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.
19. 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. Pipettes pouvant mesurer avec précision des quantités de 10 à 200 µl.
2. Pipette à canaux multiples pouvant mesurer avec précision des quantités de 10 à 200 µl.
3. Réservoirs de réactif pour pipettes à canaux multiples.
4. Pipettes sérologiques.
5. Embouts de pipettes jetables.
6. Serviettes en papier.
7. Minuterie de laboratoire pour mesurer les étapes d'incubation.
8. Bassin de résidu et de désinfectant (p. ex., 10 % de javel domestique à 0,5 % d'hypochlorite de sodium).
9. Système **AtheNA Multi-Lyte** (instrument Luminex®) avec fluide d'entraînement (produit n° 40-50035).
10. Eau distillée ou désionisée.
11. Vortex.
12. Petit bain de sonication.
13. Un agitateur de plaque pouvant atteindre la vitesse de 800 r/min (optionnel pour mélanger).
14. Système et embout d'aspiration pour le lavage des microsphères.

CONDITIONS DE STOCKAGE

	Suspension de billes : Retirer uniquement la quantité nécessaire pour analyser les échantillons devant être testés, puis restocker toute quantité non utilisée.
	Conjugué : NE PAS CONGELER.
	Système de test non ouvert, contrôle positif, contrôle négatif, solution SAve Dilent®
	Tampon de lavage (1 x) : 20 à 25 °C pendant un maximum de 7 jours; 2 à 8 °C pendant un maximum de 30 jours.
	Tampon de lavage (10 x) : 2 à 25 °C

PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS

1. ZEUS Scientific recommande que l'utilisateur prélève les échantillons conformément au document M29 du CLI intitulé « *Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease* » (dernière édition).
2. Aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie totale qu'un échantillon de sang humain ne causera aucune transmission d'infection. Par conséquent, tous les dérivés d'échantillons sanguins doivent être considérés comme possiblement infectieux.

3. Utiliser uniquement du sérum sanguin fraîchement prélevé et correctement réfrigéré, obtenu selon la procédure de ponction veineuse aseptique de cette analyse. Ne pas utiliser si un anticoagulant ou un agent de conservation a été ajouté. Éviter d'utiliser du sérum sanguin hémolysé, lipémique ou exposé à des bactéries.
4. Les échantillons peuvent être conservés à température ambiante pendant un maximum de 8 heures. Si aucun test n'est effectué dans un délai de 8 heures, le sérum sanguin peut être stocké à 2 à 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 (21).

PROCÉDURE D'ESSAI

1. Sortir les composants de leur lieu de stockage et laisser les composants se réchauffer à température ambiante (20 à 25 °C).
2. Déterminer le nombre total de contrôles et d'échantillons à tester. Il est nécessaire d'inclure un contrôle négatif et positif avec chaque expérience. Le contrôle négatif devra être testé dans le puits A1, le contrôle positif dans le puits B1. Utiliser un puits pour chaque contrôle et chaque échantillon à doser.
 - a. Afin d'optimiser les temps de lecture, la suspension de billes doit être parfaitement mélangée juste avant son utilisation. Pour resuspendre efficacement les billes, il convient tout d'abord d'agiter la suspension de billes par vortex pendant environ 30 secondes puis d'effectuer une sonication pendant environ 30 secondes dans un bain de sonication léger.
 - b. Afin de garantir la réussite de l'essai, il est important que les composants soient minutieusement mélangés. Afin de garantir un mélange adapté des composants, il convient de mélanger la plaque par agitation pendant environ 30 secondes à 800 r/min environ ; ou bien de placer un pipetteur à environ la moitié du volume de la plaque puis d'aspirer et d'expulser (en pompant vers le haut et vers le bas) le contenu du puits ; répéter l'opération au moins 5 fois.

EXEMPLE DE CONFIGURATION DE PLAQUE		
	1	2
A	Contrôle négatif	etc.
B	Contrôle positif	
C	Patient 1	
D	Patient 2	
E	Patient 3	
F	Patient 4	
G	Patient 5	
H	Patient 6	

3. Préparer une dilution 1:21 (p. ex., 10 µl de sérum + 200 µl de SAVe Diluent*) de contrôle négatif, 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.** Afin de garantir de bons résultats, il est important que les dilutions d'échantillons soient minutieusement mélangées, conformément à l'alinéa 2b ci-dessus.
4. Après avoir déterminé le nombre total de puits à doser, utiliser une pipette multicanaux ou une pipette à répétition pour délivrer 50 µl de billes en suspension dans chaque puits de la plaque de filtration.
5. Transférer 10 µl de chaque échantillon dilué (1:21) et contrôler en comparant la plaque de dilution à la plaque de filtration. Afin de garantir de bons résultats, il est important que les dilutions d'échantillons soient minutieusement mélangées, conformément à l'alinéa 2b ci-dessus.
6. Incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C) pendant 30 ± 10 minutes.
7. Après l'incubation, rincer les billes par filtration sous vide à l'aide du tampon de lavage fourni dilué (concentration 1X).
 - a. Placer la plaque de filtration sur le distributeur à vide et retirer la solution en laissant les billes.
 - b. Arrêter l'aspiration et ajouter 200 µL de solution tampon de lavage diluée (1x).
 - c. Créer le vide et retirer la solution.
 - d. Répéter les étapes 7b et 7c jusqu'à un total de trois rinçages.
8. Après le dernier lavage, sécher délicatement le fond de la plaque de filtration et laisser sécher la plaque à l'air pendant 3 à 5 minutes avant de passer à l'étape suivante.
9. Ajouter 150 µl de conjugué dans chaque puits, à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons. Afin de garantir de bons résultats, il est important que le conjugué et la suspension de billes soient minutieusement mélangés, conformément à l'alinéa 2b ci-dessus. Il est possible, en option, pendant le mélange du conjugué, de transférer le mélange dans des puits vides d'une plaque de réaction en polystyrène.
10. Incuber la plaque à température ambiante (20 à 25 °C) pendant 30 ± 10 minutes.
11. Régler l'instrument **AtheNA Multi-Lyte** pour l'analyse des réactions en sélectionnant le calibre EBV IgG Plus. Pour les détails concernant le fonctionnement de l'instrument **AtheNA Multi-Lyte**, consulter le manuel d'utilisation. Les résultats peuvent être lus à partir de la plaque de filtration ou de la plaque de réaction. **REMARQUE : Afin de garantir que les analyses d'échantillons soient correctement effectuées, il est important que l'instrument soit préparé, étalonné et conservé conformément aux instructions du fabricant.** Veuillez relire le manuel de préparation de l'instrument avant de lire les résultats de l'essai.
12. Il faut lire la plaque dans les 60 minutes qui suivent la fin de l'incubation du conjugué. Il est possible d'agiter la plaque 15 secondes environ avant de lire les résultats. Cette étape facultative peut permettre de diminuer le temps nécessaire à la lecture de la plaque.

Étape	Procédure d'essai abrégée
1	Diluer les échantillons 1:21 avec le diluant SAVe. Bien mélanger.
2	Mélanger dans un puits vide 50 µl de billes en suspension avec 10 µl d'échantillon dilué. Bien mélanger.
3	Incuber à température ambiante pendant 30 minutes (± 10 minutes).
4	Rincer les microsphères 3 fois avec 200 µl de tampon de lavage 1X.
5	Sécher délicatement le fond de la plaque et laisser sécher à l'air 3 à 5 minutes.
6	Ajouter 150 µl de conjugué dans chaque puits. Bien mélanger.
7	Transférer sur une plaque de réaction (facultatif).
8	Incuber à température ambiante pendant 30 minutes (± 10 minutes).
9	Agiter la plaque (facultatif).
10	Lire les résultats dans les 60 minutes.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

1. Pour chaque série de dosage, il est nécessaire d'utiliser le contrôle négatif (dans le puits A1) et le contrôle positif (dans le puits B1).
2. La validité de l'épreuve est définie par la performance des contrôles positifs et du contrôle négatif. Ces critères sont automatiquement analysés avec la *technologie d'étalonnage intra-puits*.
 - a. Le contrôle négatif et le contrôle positif doivent être négatifs sur les billes porteuses d'anticorps non spécifiques ou témoins.
 - b. Le contrôle négatif doit être négatif pour tous les analytes inclus dans le test sur billes en suspension.
 - c. Le contrôle positif doit être positif pour les trois groupes d'analytes inclus dans la suspension de billes. Ces intervalles sont spécifiques au lot et sont codés sur le CD de calibrage. Les intervalles informatiques peuvent être visualisés en cliquant sur le bouton « Graphiques du contrôle » du logiciel **AtheNA Multi-Lyte**, puis en sélectionnant « Limites supérieures et inférieures du contrôle ».

- d. Si l'un des critères ci-dessus n'est pas rempli, l'épreuve toute entière sera considérée comme non valide et devra être recommencée. **Ne consignez pas les résultats du patient.**
3. La validité des échantillons repose sur les caractéristiques des billes d'étalonnage et leurs interactions avec les sérums du patient. Il existe divers paramètres qui sont automatiquement contrôlés avec la *technologie d'étalonnage intra-puits*. Si l'un des critères s'avérait ne pas correspondre aux spécifications, les résultats pour le patient seraient considérés comme non valides et l'épreuve devrait être recommencée. Le cas échéant, le rapport de données indiquera l'échantillon qui a été invalidé ainsi qu'un code de dépannage. Si un échantillon est déclaré invalide de façon répétée, il doit être analysé à l'aide d'une méthodologie alternative, car il est incompatible avec le test **AtheNA Multi-Lyte®** Plus.
4. Des contrôles supplémentaires peuvent être testés conformément aux réglementations gouvernementales en vigueur et aux normes des organisations d'accréditation compétentes. Les contrôles externes doivent être représentatifs d'un sérum humain normal, car le système d'étalonnage des tests **AtheNA Multi-Lyte** est partiellement basé sur les caractéristiques d'un échantillon de sérum. Si la formulation de l'échantillon est artificielle (pas de sérum humain), des résultats erronés sont possibles.
5. Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'utilisation de contrôles positifs et négatifs afin de s'assurer de la fonctionnalité des réactifs et de la performance adéquate de la procédure de test. Les procédures de contrôle qualité doivent être effectuées conformément aux réglementations locales et /ou nationales, ou aux exigences de l'accréditation et des procédures de contrôle qualité standard du laboratoire de l'utilisateur. L'utilisateur doit consulter les recommandations EP12-A et 42 CFR 493.1256 du CLSI pour s'informer sur les pratiques de CQ appropriées (20).

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. Calculs

- a. **Étalonnage de l'essai** : Le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** EBV IgG Plus utilise une *technologie d'étalonnage intra-puits*. La *technologie d'étalonnage intra-puits* utilise une courbe d'étalonnage multipoints standard dans la suspension de billes. Grâce à la *technologie d'étalonnage intra-puits*, chaque puits de l'essai est étalonné de l'intérieur sans aucune intervention de l'utilisateur. La courbe standard est conçue pour se régler automatiquement en fonction des caractéristiques propres au sérum du patient ou au sérum témoin. Les valeurs d'étalonnage sont attribuées aux étalons internes par ZEUS. Ces valeurs sont spécifiques pour chaque lot et sont codées sur le CD d'étalonnage accompagnant chaque lot.
- b. **Valeurs seuils d'analyse** : Une valeur seuil a été assignée à chaque analyte du système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** EBV IgG Plus. Les valeurs seuils sont déterminées par ZEUS pour chaque lot de tests et sont codées sur le CD d'étalonnage accompagnant chaque lot.
- c. Grâce à la *technologie d'étalonnage intra-puits*, tous les calculs sont effectués automatiquement lors de l'utilisation du **système AtheNA Multi-Lyte**. La *technologie d'étalonnage intra-puits* effectue une analyse de régression des étalons internes, puis règle les valeurs unitaires calculées en fonction des étalons supplémentaires et des caractéristiques de l'échantillon de sérum.

2. Interprétations

- a. **Détermination des valeurs seuil** : La valeur seuil de chaque test a été établie à partir d'une population négative pour chacun des marqueurs. Les résultats du test **AtheNA Multi-Lyte** ont été déterminés pour cette population, et la valeur seuil a été définie comme étant approximativement la moyenne à laquelle a été ajoutée trois fois la déviation standard. Sur la base de ces résultats au test, le fabricant a établi les recommandations suivantes pour l'interprétation des échantillons de patients.
- b. **Interprétation de l'analyte EBV** :

Valeur unitaire	Résultat	Interprétation
< 100 UA/ml	Négatif	Un résultat < 100 UA/ml au test AtheNA Multi-Lyte pour n'importe lequel des trois marqueurs EBV indique un taux d'anticorps IgG non détectable pour ce marqueur particulier et le sérum devrait donc être considéré comme non-réactif pour les anticorps IgG dirigés contre ce marqueur. Si les trois marqueurs sont négatifs et qu'une exposition au virus Epstein-Barr (EBV) est suspectée, un second échantillon de sérum devra être prélevé et testé moins d'une à deux semaines plus tard.
100 à 120 UA/mL	Ambivalent	Les échantillons produisant des résultats AtheNA Multi-Lyte dans la plage ambivalente (100 à 120 UA/ml) pour l'un des trois marqueurs doivent faire l'objet d'un nouveau test avec une autre procédure sérologique, comme l'immunofluorescence indirecte (indirect fluorescent antibody - IFA) de Zeus Scientific, Inc. ou les procédures de test ELISA. En outre, un second échantillon fraîchement prélevé pourrait être analysé.
> 120 UA/ml	Positif	Un résultat AtheNA Multi-Lyte > 120 UA/ml pour l'un des trois marqueurs EBV signifie que l'échantillon contient des anticorps IgG dirigés contre ce marqueur. Un résultat positif suppose une infection actuelle ou ancienne au virus Epstein-Barr (EBV) et doit être signalé comme réactif pour les anticorps IgG au(x) marqueur(s). D'autres essais sérologiques de dépistage de l'EBV (p. ex., le test EBV VCA IgM) doivent être réalisés pour confirmer le bilan sérologique de la mononucléose infectieuse associée au virus Epstein-Barr (infection active <i>aiguë</i> , ancienne ou état indéterminé).

- c. Utiliser le tableau ci-dessous, lequel indique la réactivité typique aux divers marqueurs EBV selon l'état de la maladie (séronégatif, infection aiguë, infection ancienne ou état indéterminé). S'il y a trop d'activité sur la bille CNS (contrôle non spécifique), la technologie *Intra-Well Calibration Technology* ne validera pas cet échantillon. Les échantillons non valides doivent être testés à nouveau. Les échantillons répétitivement non valides doivent être retestés avec une autre procédure, notamment le test ZEUS IFA ou le test ZEUS ELISA. La valeur numérique du résultat final au-dessus de la valeur seuil pour l'un des trois marqueurs EBV n'est pas révélatrice de la quantité présente d'anticorps IgG anti-EBV.

Classement EBV	Hétérophile	IgM anti-VCA	IgG anti-VCA	IgG anti-EBNA-1	IgG ¹ anti-EBV EA
Séronégatif	Non réactif	Non réactif	Non réactif	Non réactif	Non réactif
	Non disponible	Non réactif	Non réactif	Non réactif	Non réactif
Infection aiguë	Réactif	Réactif	Réactif	Non réactif	Réactif
	Réactif	Réactif	Non réactif	Non réactif	Réactif
	Non réactif	Réactif	Réactif	Non réactif	Réactif
	Réactif	Réactif	Réactif	Non réactif	Non disponible
	Réactif	Réactif	Non réactif	Non réactif	Non disponible
	Non réactif	Réactif	Réactif	Non réactif	Non disponible
Ancienne infection	Non réactif	Non réactif	Réactif	Réactif	Réactif
	Non disponible	Non réactif	Réactif	Réactif	Réactif
	Non réactif	Non réactif	Réactif	Réactif	Non disponible
	Non disponible	Non réactif	Réactif	Réactif	Non disponible
Indéterminé	Toute combinaison ne figurant pas dans les trois catégories ci-dessus.				

¹ L'antigène précoce (EA) utilisé lors du test **AtheNA Multi-Lyte** contient des volumes approximativement égaux d'antigènes précoces diffus (EA/D) et d'antigènes précoces restreints (EA/R). Le taux d'anticorps anti-EA/D présente une augmentation transitoire durant une infection aiguë, pour ensuite devenir indétectable après 3 à 6 mois. Les anticorps anti-EA/R apparaissent après les anticorps anti-EA/D et peuvent être présents pendant 2 ans ou plus.

LIMITES DU TEST

1. Le test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV IgG Plus** vise à aider au diagnostic mais n'est pas un diagnostic en soi. Les résultats de test doivent être interprétés conjointement avec l'évaluation clinique et avec les résultats d'autres procédures de diagnostic.
2. Des échantillons hémolytiques, ictériques ou lipémiques peuvent fausser le résultat de cette analyse. Par ailleurs, des échantillons présentant des taux anormaux d'IgG peuvent interférer avec les résultats du test. Il faudra donc éviter d'utiliser de tels échantillons.
3. Les caractéristiques de performance de ce dispositif n'ont été établies que pour la mononucléose infectieuse et non pour d'autres maladies associées au virus d'Epstein-Barr.
4. Ce test ne doit pas être réalisé pour dépister une maladie au sein de la population générale. La valeur de prévision d'un résultat positif ou négatif dépend de la prévalence de l'analyse dans une population de patients donnée. L'essai ne doit être effectué que lorsque la preuve clinique suggère le diagnostic d'une mononucléose infectieuse associée au virus d'Epstein-Barr.
5. Les résultats des tests d'anticorps anti-VCA doivent être interprétés conjointement à une évaluation clinique et aux résultats des tests pour les autres anticorps anti-EBV (p. ex., dirigés contre EBNA, EA et VCA-IgG).
6. Il est possible que les résultats de patients immunodéprimés soient difficiles à interpréter.
7. Les caractéristiques de performance de ce dispositif n'ont pas été établies pour des matrices autres que du sérum sanguin.
8. Les caractéristiques de performance de ce dispositif n'ont pas été établies pour des échantillons contenant des anticorps hétérophiles connus pour causer de fausses positivité dans divers immunoessais.

RÉSULTATS ATTENDUS

L'essai clinique du produit a été réalisé avec 693 échantillons prélevés prospectivement et 70 échantillons obtenus rétrospectivement pour un total de 763 échantillons. Mis à part les échantillons testés chez ZEUS, les échantillons ont été testés dans trois autres établissements ; un centre médical universitaire situé dans l'est des États-Unis et deux hôpitaux situés dans le nord-est des États-Unis. Des 693 échantillons prospectifs testés, 412 (testés chez ZEUS et au centre médical universitaire) étaient accompagnés d'informations démographiques sur les échantillons (les deux sites hospitaliers n'ont pas joint d'informations démographiques à leurs résultats de tests), indiqués dans le tableau 1. L'histogramme (figure 1) décrit la distribution d'âges des patients ayant fourni les 412 échantillons et les autres tableaux indiquent le sexe des patients ayant fourni les échantillons de chaque essai. Le tableau 2 présente le nombre de résultats statistiques pour les échantillons féminins et masculins associés à chacun des trois essais.

Tableau 1 : Informations démographiques des patients ayant fourni les échantillons

	Nombre d'échantillons	Moyenne	Médiane	Minimum	Maximum
Échantillons provenant de sujets féminins	243	34,8	32,0	1	84
Échantillons provenant de sujets masculins	169	35,8	33,0	1	83

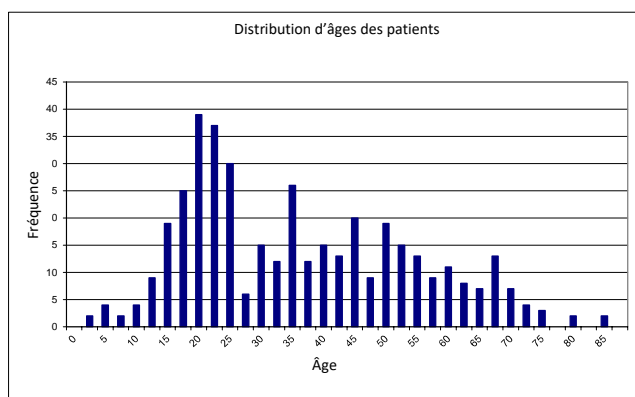


Figure 1 : Distribution d'âges

Tableau 2 : Résultats statistiques par essai

	Échantillons provenant de sujets féminins			Échantillons provenant de sujets masculins		
	VCA G	EBNA	EA	VCA G	EBNA	EA
Moyenne (UA/ml)	352,6	626,5	150	353,5	611,6	145,3
Médiane (UA/ml)	365	747	116	324,5	729	115,5
Minimum (UA/ml)	17	7	17	22	7	13
Maximum (UA/ml)	847	1050	632	830	1065	604

Résultat IgG anti-EBV-VCA :

Au sein du groupe féminin, 81,1 % des échantillons (167/206) se sont avérés positifs, 18,0 % (37/206) se sont avérés négatifs, 1,0 % (2/206) se sont avérés ambivalents et aucun (0/206) n'avait un résultat invalide. Au sein du groupe masculin, 78,7 % des échantillons (107/136) se sont avérés positifs, 19,9 % (27/136) se sont avérés négatifs, 1,5 % (2/136) se sont avérés ambivalents et aucun (0/136) n'avait un résultat invalide. Au niveau de l'ensemble de la population des 763 échantillons testés, 606/763 (79,4 %) se sont avérés positifs, 148/763 (19,4 %) se sont avérés négatifs, 8/763 (1,0 %) se sont avérés ambivalents et 1/763 (0,1 %) était invalide.

Résultat IgG anti-EBNA :

Au sein du groupe féminin, 86,4 % des échantillons (178/206) se sont avérés positifs, 12,1 % (25/206) se sont avérés négatifs, 1,5 % (3/206) se sont avérés ambivalents et aucun (0/206) n'avait un résultat invalide. Au sein du groupe masculin, 86,8 % des échantillons (118/136) se sont avérés positifs, 13,2 % (18/136) se sont avérés négatifs, aucun (0/136) n'était ambivalent et aucun (0/136) n'avait un résultat invalide. Au niveau de l'ensemble de la population des 763 échantillons testés, 547/763 (71,7 %) se sont avérés positifs, 211/763 (27,7 %) se sont avérés négatifs, 4/763 (0,5 %) se sont avérés ambivalents et 1/763 (0,1 %) était invalide.

Résultat IgG anti-EBV-EA :

Au sein du groupe féminin, 49,5 % des échantillons (102/206) se sont avérés positifs, 46,6 % (96/206) se sont avérés négatifs, 3,9 % (8/206) se sont avérés ambivalents et aucun (0/206) n'avait un résultat invalide. Au sein du groupe masculin, 49,3 % des échantillons (67/136) se sont avérés positifs, 45,6 % (62/136) se sont avérés négatifs, 5,1 % (7/136) se sont avérés ambivalents et aucun (0/136) n'avait un résultat invalide. Au niveau de l'ensemble de la population des 763 échantillons testés, 283/763 (37,1 %) se sont avérés positifs, 452/763 (59,2 %) se sont avérés négatifs, 27/763 (3,5 %) se sont avérés ambivalents et 1/763 (0,1 %) était invalide.

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

1. Étude comparative

Une étude comparative a été réalisée sur plusieurs sites, visant à évaluer l'efficacité du système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV IgG Plus** pour la classification en états pathologiques des échantillons testés avec d'autres réactifs sérologiques au virus Epstein-Barr (EBV). Les échantillons ont été testés en référence à des essais ELISA de détection d'IgG anti-EBV-VCA, d'IgG anti-EBNA, d'IgM anti-EBV-VCA et d'anticorps hétérophiles avec un test d'agglutination au latex pour des fins de classement en états pathologiques. Les résultats ELISA de recherche d'IgG anti-EBV-EA n'ont pas été considérés aux fins de classement des échantillons en états pathologiques. Au total, 763 échantillons ont été testés. Parmi les 763 échantillons testés, 693 étaient des échantillons prospectifs et 70 étaient des échantillons rétrospectifs. Le groupe des échantillons rétrospectifs a été sélectionné puisque les informations cliniques disponibles suggéraient qu'ils étaient représentatifs des cas aigus de mononucléose infectieuse. À partir des résultats des trois tests ELISA de référence et du test hétérophile, les échantillons ont été classés en 4 groupes (tableau 3).

Tableau 3 : Population d'échantillons après le classement en états pathologiques

Classement EBV	Échantillons prospectifs	Échantillons rétrospectifs	Hétérophile	IgG anti-VCA	IgM anti-VCA	IgG anti-EBNA-1
Infection aiguë	28	50	+	+	+	-
			+	-	+	-
			-	+	+	-
Aucune infection	95	1	-	-	-	-
			N.D.	-	-	-
Ancienne infection	480	3	-	+	-	+
			N.D.	+	-	+
Indéterminé	90	16	+	+	+	+
			+	+	-	+
			-	-	+	+
			-	+	+	+
			-	+	-	-
			-	-	+	-
			-	-	-	+
N.D.	+	-	-			
Total :	693	70	+ = Réactif	- = Non réactif	N.D. = Non disponible	

REMARQUE : Lorsque le résultat d'un test de référence était ambivalent, il était considéré comme non réactif (-).

Les données comparatives des échantillons prospectifs avec infection aiguë, sans infection, avec infection ancienne et état indéterminé (n=693) sont indiquées dans les tableaux 4 à 6.

Tableau 4 : Résultats du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus** comparés aux résultats du test ELISA de recherche d'IgG anti-EBV-VCA

ELISA	Négatif				Ambivalent				Positif				Total N
	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	
Infection aiguë	9	1	0	0	1	0	0	0	16	0	0	1	28
Aucune infection	2	92	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95
Ancienne infection	0	0	0	0	0	0	0	0	441	35	4	0	480
Indéterminé	15	12	0	0	0	0	0	0	57	5	1	0	90
Global	26	105	1	0	1	0	0	0	514	40	5	1	693

¹ Résultats ambivalents après répétition du test.

Tableau 5 : Résultats du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus** comparés aux résultats du test ELISA de recherche d'IgG anti-EBNA

ELISA	Négatif				Ambivalent				Positif				Total N
	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	
Infection aiguë	4	23	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	28
Aucune infection	4	90	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95
Ancienne infection	0	0	0	0	0	0	0	0	472	6	2	0	480
Indéterminé	20	24	1	0	0	0	0	0	41	4	0	0	90
Global	28	137	2	1	0	0	0	0	513	10	2	0	693

¹ Résultats ambivalents après répétition du test.

Tableau 6 : Résultats du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus** comparés aux résultats du test ELISA de recherche d'IgG anti-EBV-EA

ELISA	Négatif				Ambivalent				Positif				Total N
	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	
Infection aiguë	3	19	0	1	0	1	0	0	1	3	0	0	28
Aucune infection	2	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95
Ancienne infection	137	213	24	0	8	0	0	0	95	3	0	0	480
Indéterminé	15	59	1	0	0	0	0	0	13	2	0	0	90
Global	157	384	25	1	8	1	0	0	109	8	0	0	693

¹ Résultats ambivalents après répétition du test.

Les données comparatives des résultats attendus des échantillons rétrospectifs avec infection aiguë, sans infection, avec infection ancienne et état indéterminé (n=70) sont indiquées dans les tableaux 7 à 9.

Tableau 7 : Résultats du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus** comparés aux résultats du test ELISA de recherche d'IgG anti-EBV-VCA

ELISA	Négatif				Ambivalent				Positif				Total N
	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	
Infection aiguë	12	1	1	0	1	1	0	0	34	0	0	0	50
Aucune infection	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Ancienne infection	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3
Indéterminé	7	1	0	0	1	0	0	0	6	0	1	0	16
Global	20	2	1	0	2	1	0	0	43	0	1	0	70

¹ Résultats ambivalents après répétition du test.

Tableau 8 : Résultats du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus** comparés aux résultats du test ELISA de recherche d'IgG anti-EBNA

ELISA	Négatif				Ambivalent				Positif				Total N
	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	
Infection aiguë	2	48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50
Aucune infection	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Ancienne infection	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3
Indéterminé	0	4	0	0	0	0	0	0	1	11	0	0	16
Global	2	53	0	0	0	0	0	0	4	11	0	0	70

¹ Résultats ambivalents après répétition du test.

Tableau 9 : Résultats du test ZEUS AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus comparés aux résultats du test ELISA de recherche d'IgG anti-EBV-EA

ELISA AtheNA	Négatif				Ambivalent				Positif				Total N
	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	Réactif	Non réactif	Ambivalent ¹	Invalide	
Infection aiguë	1	25	0	0	1	3	1	0	4	14	1	0	50
Aucune infection	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Ancienne infection	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	3
Indéterminé	0	10	0	0	0	0	0	0	1	5	0	0	16
Global	2	37	0	0	1	3	1	0	6	19	1	0	70

¹ Résultats ambivalents après répétition du test.

Pour des raisons de calculs de pourcentage de concordance, les résultats ambivalents du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV IgG Plus** ont été attribués à l'interprétation clinique opposée plutôt qu'au résultat du test comparatif. De même, les résultats ambivalents du test comparatif ont été attribués à l'interprétation clinique opposée plutôt qu'au résultat du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV IgG Plus**. Les pourcentages de concordance entre les tests ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV IgG Plus** et les tests ELISA de recherche d'IgG anti-EBV sont résumés dans les tableaux 10 à 15.

Tableau 10 : Résultats du test ZEUS AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus comparés aux résultats du test ELISA de recherche d'IgG anti-EBV-VCA (échantillons prospectifs)

Classement EBV	Pourcentage de concordance négatif (x/n) ^b	Intervalle de confiance 95 % exact	Pourcentage de concordance positif (x/n) ^a	Intervalle de confiance 95 % exact
Infection aiguë	9,1 (1/11)	0 - 26,1	94,1 (16/17)	82,9 - 100
Aucune infection	97,9 (92/94)	95,0 - 100	N.D. ^c	N.D.
Ancienne infection	N.D.	N.D.	91,9 (441/480)	89,4 - 94,3
Indéterminé	44,4 (12/27)	25,7 - 63,2	90,5 (57/63)	83,2 - 97,7
Global	78,9 (105/133)	72,0 - 85,9	91,8 (514/560)	89,5 - 94,1

- a x = nombre de résultats ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus** confirmés positifs en concordance avec les résultats positifs confirmés du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-VCA de référence ; n = nombre total de résultats confirmés positifs du test recherche d'anticorps IgG anti-EBV-VCA de référence.
- b x = nombre de résultats du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus** non réactifs en concordance avec le test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-VCA de référence ; n = nombre total de résultats du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-VCA de référence qui sont non réactifs.
- c La concordance conduit à 0/0 échantillon. Dans ces cas, il est impossible de calculer le pourcentage de concordance et les intervalles de confiance à 95 %.

Tableau 11 : Résultats du test ZEUS AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus comparés aux résultats du test ELISA de recherche d'IgG anti-EBNA (échantillons prospectifs)

Classement EBV	Pourcentage de concordance négatif (x/n) ^b	Intervalle de confiance 95 % exact	Pourcentage de concordance positif (x/n) ^a	Intervalle de confiance 95 % exact
Infection aiguë	85,2 (23/27)	71,8 - 98,6	N.D. ^c	N.D.
Aucune infection	95,7 (90/94)	91,7 - 99,8	N.D.	N.D.
Ancienne infection	N.D.	N.D.	98,3 (472/480)	97,2 - 99,5
Indéterminé	53,3 (24/45)	38,8 - 67,9	91,1 (41/45)	82,8 - 99,4
Global	77,0 (137/178)	70,8 - 83,2	97,7 (513/525)	96,4 - 99,0

- a x = nombre de résultats ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus** confirmés positifs en concordance avec les résultats positifs confirmés du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBNA de référence ; n = nombre total de résultats confirmés positifs du test recherche d'anticorps IgG anti-EBNA de référence.
- b x = nombre de résultats du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus** non réactifs en concordance avec le test de recherche d'anticorps IgG anti-EBNA de référence ; n = nombre total de résultats du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBNA de référence qui sont non réactifs.
- c La concordance conduit à 0/0 échantillon. Dans ces cas, il est impossible de calculer le pourcentage de concordance et les intervalles de confiance à 95 %.

Tableau 12 : Résultats du test ZEUS AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus comparés aux résultats du test ELISA de recherche d'IgG anti-EBV-EA (échantillons prospectifs)

Classement EBV	Pourcentage de concordance négatif (x/n) ^b	Intervalle de confiance 95 % exact	Pourcentage de concordance positif (x/n) ^a	Intervalle de confiance 95 % exact
Infection aiguë	79,2 (19/24)	62,9 - 95,4	25,0 (1/4)	0 - 67,4
Aucune infection	97,9 (93/95)	95,0 - 100	N.D. ^c	N.D.
Ancienne infection	55,8 (213/382)	50,8 - 60,7	96,9 (95/98)	93,5 - 100
Indéterminé	78,7 (59/75)	69,4 - 87,9	86,7 (13/15)	69,5 - 100
Global	66,7 (384/576)	62,8 - 70,5	93,2 (109/117)	88,6 - 97,7

- a x = nombre de résultats ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus** confirmés positifs en concordance avec les résultats positifs confirmés du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-EA de référence ; n = nombre total de résultats confirmés positifs du test recherche d'anticorps IgG anti-EBV-EA de référence.
- b x = nombre de résultats du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus** non réactifs en concordance avec le test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-EA de référence ; n = nombre total de résultats du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-EA de référence qui sont non réactifs.
- c La concordance conduit à 0/0 échantillon. Dans ces cas, il est impossible de calculer le pourcentage de concordance et les intervalles de confiance à 95 %.

Tableau 13 : Résultats du test ZEUS AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus comparés aux résultats du test ELISA de recherche d'IgG anti-EBV-VCA (échantillons rétrospectifs / infection aiguë attendue)

Classement EBV	Pourcentage de concordance négatif (x/n) ^b	Intervalle de confiance 95 % exact	Pourcentage de concordance positif (x/n) ^a	Intervalle de confiance 95 % exact
Infection aiguë	6,3 (1/16)	0 - 18,1	100 (34/34)	100 - 100
Aucune infection	0,0 (0/1)	0 - 0	N.D. ^c	N.D.
Ancienne infection	N.D.	N.D.	100 (3/3)	100 - 100
Indéterminé	11,1 (1/9)	0 - 31,6	85,7 (6/7)	59,8 - 100
Global	7,7 (2/26)	0 - 17,9	97,7 (43/44)	93,3 - 100

- a x = nombre de résultats ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus** confirmés positifs en concordance avec les résultats positifs confirmés du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-VCA de référence ; n = nombre total de résultats confirmés positifs du test recherche d'anticorps IgG anti-EBV-VCA de référence.
- b x = nombre de résultats du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV-VCA IgG Plus** non réactifs en concordance avec le test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-VCA de référence ; n = nombre total de résultats du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-VCA de référence qui sont non réactifs.
- c La concordance conduit à 0/0 échantillon. Dans ces cas, il est impossible de calculer le pourcentage de concordance et les intervalles de confiance à 95 %.

Tableau 14 : Résultats du test ZEUS AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus comparés aux résultats du test ELISA de recherche d'IgG anti-EBNA (échantillons rétrospectifs / infection aiguë attendue)

Classement EBV	Pourcentage de concordance négatif (x/n) ^b	Intervalle de confiance 95 % exact	Pourcentage de concordance positif (x/n) ^a	Intervalle de confiance 95 % exact
Infection aiguë	96,0 (48/50)	90,6 - 100	N.D. ^c	N.D.
Aucune infection	100 (1/1)	100 - 100	N.D.	N.D.
Ancienne infection	N.D.	N.D.	100 (3/3)	100 - 100
Indéterminé	100 (4/4)	100 - 100	8,3 (1/12)	0 - 24,0
Global	96,4 (53/55)	91,4 - 100	26,7 (4/15)	4,3 - 49,0

a x = nombre de résultats ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus** confirmés positifs en concordance avec les résultats positifs confirmés du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBNA de référence ; n = nombre total de résultats confirmés positifs du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBNA de référence.

b x = nombre de résultats du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBNA IgG Plus** non réactifs en concordance avec le test de recherche d'anticorps IgG anti-EBNA de référence ; n = nombre total de résultats du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBNA de référence qui sont non réactifs.

c La concordance conduit à 0/0 échantillon. Dans ces cas, il est impossible de calculer le pourcentage de concordance et les intervalles de confiance à 95 %.

Tableau 15 : Résultats du test ZEUS AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus comparés aux résultats du test ELISA de recherche d'IgG anti-EBV-EA (échantillons rétrospectifs / infection aiguë attendue)

Classement EBV	Pourcentage de concordance négatif (x/n) ^b	Intervalle de confiance 95 % exact	Pourcentage de concordance positif (x/n) ^a	Intervalle de confiance 95 % exact
Infection aiguë	80,6 % (25/31)	66,7 % - 94,6 %	21,1 % (4/19)	2,7 % - 39,4 %
Aucune infection	100 % (1/1)	100 % - 100 %	N.D. ^c	N.D.
Ancienne infection	50,0 % (1/2)	0 % - 100 %	100 % (1/1)	100 % - 100 %
Indéterminé	100 % (10/10)	100 % - 100 %	16,7 % (1/6)	0 % - 46,5 %
Global	84,1 % (37/44)	73,3 % - 94,9 %	23,1 % (6/26)	6,9 % - 39,3 %

a x = nombre de résultats ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus** confirmés positifs en concordance avec les résultats positifs confirmés du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-EA de référence ; n = nombre total de résultats confirmés positifs du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-EA de référence.

b x = nombre de résultats du test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV-EA IgG Plus** non réactifs en concordance avec le test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-EA de référence ; n = nombre total de résultats du test de recherche d'anticorps IgG anti-EBV-EA de référence qui sont non réactifs.

c La concordance conduit à 0/0 échantillon. Dans ces cas, il est impossible de calculer le pourcentage de concordance et les intervalles de confiance à 95 %.

2. Précision

La précision a été évaluée sur les trois sites cliniques. Afin d'évaluer la reproductibilité intra-essai et la reproductibilité inter-essais, six échantillons ont été testés. Chaque jour, chaque échantillon était dilué deux fois puis copié quatre fois, ce qui a donné un total de huit puits pour chacun des six échantillons. Ce protocole a été suivi pendant trois jours. Les résultats ont ensuite été utilisés pour calculer les valeurs moyennes UA/ml, les écarts types et le coefficient de variation (exprimé en pourcentage). Sur chaque site, les échantillons ont été sélectionnés de façon à ce que certains soient clairement négatifs, certains clairement positifs et certains faiblement positifs ou près de la valeur seuil de l'essai. Un résumé de ces tests apparaît dans le tableau 16 ci-dessous.

Tableau 16 : Tests de précision

		EBV-VCA						EBNA						EBV-EA						
		Panel 1	Panel 2	Panel 3	Panel 4	Panel 5	Panel 6	Panel 7	Panel 8	Panel 9	Panel 10	Panel 11	Panel 12	Panel 13	Panel 14	Panel 15	Panel 16	Panel 17	Panel 18	
Site 1	Moyenne	603	481	80	96	43	44	941	1041	110	43	32	23	785	433	100	141	78	61	
	Avant fin du jour 1	ET	20,12	16,88	13,15	11,09	3,62	4,62	55,26	39,14	8,85	5,42	2,38	2,93	48,68	23,55	6,65	6,25	5,62	7,78
		CV (%)	3,4	3,5	14,6	10,7	8,0	10,4	6,0	3,8	7,9	11,4	7,1	11,9	6,3	5,4	6,5	4,4	6,8	12,0
	Avant fin du jour 2	ET	28,17	27,84	4,77	7,61	2,83	4,14	48,13	30,75	18,41	3,65	6,00	2,72	47,35	37,22	3,82	14,79	6,95	8,94
		CV (%)	4,7	5,9	5,9	8,3	6,8	9,3	5,2	2,9	16,1	9,6	9,3	11,6	6,0	8,9	3,9	10,1	9,1	14,6
	Avant fin du jour 3	ET	50,64	44,12	5,96	7,44	3,29	5,68	53,18	76,73	7,38	5,15	2,38	2,45	86,79	38,29	11,97	8,68	11,20	12,08
		CV (%)	8,3	9,1	8,5	8,1	7,8	13,0	5,4	7,5	7,2	12,1	7,6	11,4	10,9	8,6	12,0	6,5	14,9	21,3
Entre les jours	ET	35,01	30,73	11,76	10,47	3,55	4,66	57,99	52,53	12,94	6,00	2,62	2,88	62,19	34,38	7,95	11,40	8,46	9,94	
		CV (%)	5,8	6,4	14,7	10,9	8,2	10,5	6,2	5,0	11,8	14,0	8,1	12,4	7,9	7,9	7,9	8,1	10,8	16,3
	Moyenne	559	470	77	88	32	34	905	1000	99	42	18	10	687	425	119	119	35	21	
Site 2	Avant fin du jour 1	ET	22,23	13,77	5,78	4,89	2,56	3,96	30,25	32,93	6,58	5,13	1,39	1,46	20,68	15,72	4,72	4,24	4,75	3,78
		CV (%)	4,1	3,1	8,4	6,3	8,1	12,5	3,4	3,4	7,6	15,3	7,2	17,9	3,0	4,0	4,3	3,9	14,1	18,5
	Avant fin du jour 2	ET	28,30	12,24	3,36	7,02	2,60	2,07	12,96	24,48	2,20	4,32	1,85	2,07	35,62	24,87	4,72	5,70	3,29	3,78
		CV (%)	4,7	5,9	5,9	8,3	6,8	9,3	1,4	2,5	2,0	10,0	12,0	21,8	5,2	6,2	4,3	4,7	11,5	18,0
	Avant fin du jour 3	ET	28,79	28,19	3,62	4,84	2,39	2,00	26,95	28,53	4,57	2,98	1,49	2,07	42,69	20,44	7,45	11,44	6,25	4,12
		CV (%)	5,0	5,6	4,3	5,0	6,9	5,1	2,9	2,7	4,4	6,0	7,5	16,4	6,2	4,3	5,5	9,1	14,6	18,0
		ET	29,97	33,14	7,55	9,62	3,13	4,49	31,76	59,45	10,35	7,84	2,51	2,64	32,78	40,73	13,37	10,22	7,60	3,88
	CV (%)	5,4	7,1	9,8	10,9	9,8	13,2	3,5	5,9	10,4	18,7	13,8	26,1	4,8	9,6	11,2	8,6	21,7	18,1	
Site 3	Moyenne	584	499	94	143	33	36	931	1046	111	32	17	10	677	457	107	130	31	22	
	Avant fin du jour 1	ET	27,63	43,55	5,59	7,70	2,67	3,23	20,77	45,47	9,05	5,55	5,37	3,14	26,82	20,59	6,32	5,70	8,67	6,97
		CV (%)	4,3	7,7	5,3	6,2	7,1	7,8	2,2	4,2	6,5	18,5	27,9	24,4	3,6	3,9	6,6	3,8	20,5	24,5
	Avant fin du jour 2	ET	14,48	20,07	6,30	9,57	2,83	4,16	32,04	27,07	8,10	2,60	3,16	2,98	18,56	19,33	8,5	4,49	6,73	9,13
		CV (%)	2,6	4,3	7,3	6,4	9,3	12,3	3,4	2,6	8,4	7,7	20,5	31,3	2,8	4,6	7,8	3,8	25,2	40,8
	Avant fin du jour 3	ET	22,82	17,20	7,69	10,34	2,73	2,97	27,81	43,14	5,42	4,17	2,66	2,49	39,96	16,10	11,08	7,48	5,96	5,76
		CV (%)	4,1	3,7	8,5	6,6	8,8	9,4	3,1	4,2	5,5	13,3	15,9	32,2	6,4	3,8	9,6	6,2	23,7	34,9
Entre les jours	ET	48,55	54,35	10,32	15,98	4,18	5,32	34,56	45,33	21,08	4,39	4,08	3,51	55,59	54,87	12,01	16,52	10,52	8,68	
	CV (%)	8,3	10,9	11,0	11,2	12,7	15,0	3,7	4,3	19,0	13,9	23,8	34,9	8,2	12,0	11,2	12,7	33,5	38,6	
Entre les sites	ET	42,18	41,99	12,37	27,38	6,21	6,55	45,14	55,95	16,11	8,00	7,60	6,88	70,85	45,63	13,70	15,73	23,07	20,10	
	CV (%)	7,2	8,7	14,8	25,1	17,2	17,3	4,9	5,4	15,1	20,6	33,8	47,7	9,9	10,4	12,6	12,1	47,9	57,5	

3. Réactivité croisée

Afin de tester le risque de réactivité croisée avec d'autres anticorps IgG, six échantillons ont été sélectionnés, ayant un résultat négatif pour tous les marqueurs EBV, ainsi qu'un résultat négatif pour les anticorps hétérophiles et auto-immunes. Ces échantillons étaient cependant positifs pour les marqueurs de diverses maladies infectieuses : cytomégalovirus (1), virus d'herpès simplex 1 (3), virus d'herpès simplex 2 (3), rougeole (5), oreillons (6), rubéole (6), toxoplasmose (1) et virus varicelle-zona (5). Lorsque ces échantillons ont été soumis au système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte EBV IgG Plus**, ils se sont avérés négatifs pour les marqueurs EBV contrôlés. Aucun test spécifique d'interférence ou de réactivité croisée avec des anticorps hétérophiles et auto-immunes n'a été réalisé.

4. Substances potentiellement interférentes

Une étude a été menée afin de déterminer les effets potentiels des substances interférentes retrouvées dans des échantillons de sérum. Des substances potentiellement interférentes ont présenté des pics dans les échantillons de sérum aux niveaux indiqués dans le tableau 17.

Tableau 17 : Substances interférentes

Substance	Pic inférieur	Pic supérieur
Bilirubine	1,9 mg/dl	3,8 mg/dl
Albumine humaine	5,5 g/dl	11 g/dl
Anticorps IgG humain	1,8 g/dl	3,6 g/dl
Cholestérol	200 mg/dl	400 mg/dl
Triglycérides	150 mg/dl	300 mg/dl
Hémoglobine	18 g/dl	360 g/dl
Intralipides	3,5 mg/ml	7 mg/ml

À noter que les niveaux des pics supérieur et inférieur ont été ajoutés au niveau de base de ces matériaux susceptibles d'être présents dans les sérums d'origine. Les niveaux dans les sérums d'origine n'ont pas été détectés. Pour cette étude, trois sérums positifs aux anticorps IgG anti-EBV ont été évalués en présence de chacune des substances ci-dessus. Deux des sérums sélectionnés ont été clairement positifs et l'un des échantillons sélectionnés était faiblement positif. Les résultats des échantillons de contrôle et les sérums des pics inférieur et supérieur sont présentés dans le tableau 18.

Tableau 18 : Résultats de substances interférentes dans les échantillons

Test	Numéro d' échantillon		Substance – Niveau de pic														
			Contrôle - N.D.	Bilirubine - Inf.	Bilirubine - Sup.	Albumine - Inf.	Albumine - Sup.	IgG - Inf.	IgG - Sup.	Cholestérol - Inf.	Cholestérol - Sup.	Triglycérides - Inf.	Triglycérides - Sup.	Hémoglobine - Inf.	Hémoglobine - Sup.	Intralipides - Inf.	Intralipides - Sup.
ZEUS AtheNA EBV IgG Plus	1	Résultat	711	653	727	631	681	626	705	617	627	581	590	650	641	634	601
		% de récup. de signal positif		91,8	102,3	88,7	95,8	88,0	99,2	86,8	88,2	81,7	83,0	91,4	90,2	89,2	84,5
	2	Résultat	581	622	563	578	644	570	597	521	484	534	484	468	544	480	461
		% de récup. de signal positif		107,1	96,9	99,5	110,8	98,1	102,8	89,7	83,3	91,9	83,3	806	93,6	82,6	79,3
	3	Résultat	282	287	242	179	174	546	532	220	173	265	194	199	182	199	213
		% de récup. de signal positif		101,8	85,8	63,5	61,7	193,6	188,7	78,0	61,3	94,0	68,8	70,6	64,5	70,6	75,5
ZEUS AtheNA EBNA IgG Plus	1	Résultat	994	925	962	931	907	939	945	883	926	861	923	863	909	922	861
		% de récup. de signal positif		93,1	96,8	93,7	91,2	94,5	95,1	88,8	93,2	86,6	92,9	86,8	91,4	92,8	86,6
	2	Résultat	859	890	780	799	891	955	1003	734	689	809	682	728	756	715	686
		% de récup. de signal positif		103,6	90,8	93,0	103,7	111,2	116,8	85,4	80,2	94,2	79,4	84,7	88,0	83,2	79,9
	3	Résultat	353	380	310	241	226	1034	1007	287	253	342	301	258	242	250	272
		% de récup. de signal positif		107,6	87,8	68,3	64,0	292,9	285,3	81,3	71,7	96,9	85,3	73,1	68,6	70,8	77,1
ZEUS AtheNA EBV-EA IgG Plus	1	Résultat	377	337	339	347	432	300	411	297	278	261	266	257	329	290	286
		% de récup. de signal positif		89,4	89,9	92,0	90,7	79,6	109,0	78,8	73,7	69,2	70,6	68,2	87,3	76,9	75,9
	2	Résultat	268	258	225	245	281	278	310	229	185	241	175	170	233	175	186
		% de récup. de signal positif		96,3	84,0	91,4	104,9	103,7	115,7	85,4	69,0	89,9	65,3	63,4	86,9	65,3	69,4
	3	Résultat	115	102	86	78	57	228	257	75	56	78	74	61	66	83	70
		% de récup. de signal positif		88,7	74,8	67,8	49,6	198,3	223,5	65,2	48,7	67,8	64,3	53,0	57,4	72,2	60,9

Toutes les substances testées ont présenté un certain niveau d'interférence avec les échantillons utilisant le système de test ZEUS AtheNA Multi-Lyte EBV IgG Plus. Le taux de récupération de signal positif pour l'échantillon 3 faiblement positif allait de 48,7 % à 292,9 %, selon l'essai, l'identité de l'interférent et le niveau testé (voir ci-dessus).

Les résultats inhabituellement élevés des échantillons ayant présenté des pics d'IgG humaine sont probablement dus au fait que l'IgG humaine ayant présenté des pics était positive à l'EBV. Les échantillons hémolytiques, ictériques, lipémiques ou qui contiennent des niveaux élevés d'anticorps IgG ou de cholestérol ne doivent pas être testés avec le système de test ZEUS AtheNA Multi-Lyte EBV IgG Plus. Même si les quantités limitées de données présentées dans l'étude ci-dessus le démontrent ou non, les échantillons ayant des niveaux élevés de ces substances interférentes peuvent produire des résultats faussement positifs ou faussement négatifs.

RÉFÉRENCES

- Rapp CE, and Heweston JF: Infectious mononucleosis and the Epstein-Barr virus. Am. J. Dis. Child. 132:78, 1978.
- Biggar RJ, Henle W, Fleisher G, Bocker J, Lennette ET, and Henle G: Primary Epstein-Barr virus infections in African infants. I: Decline of maternal antibodies and time of infection. Int. J. Cancer. 22:239, 1978.
- Fry J: Infectious mononucleosis: Some new observations from a 15 year study. J. Fam. Prac. 10:1087, 1980.

4. Lennette ET: Epstein-Barr virus. In: Manual of Clinical Microbiology, 4th edition. Lennette ET, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ, eds. Washington DC, American Society for Microbiology, p. 326, 1987.
5. Fleisher G, Henle W, Henle G, Lennette ET, and Biggar RJ: Primary infection with Epstein-Barr virus in infants in the United States: Clinical and Serological Observations. J. Infect. Dis. 139:553, 1979.
6. Merlin TL: Chronic mononucleosis: Pitfalls in the laboratory diagnosis. Hum. Path. 17:2, 1986.
7. Sixbey JW, Nedrud JG, Raab-Traub N, Hanes RA, Pagano JS: Epstein-Barr virus replication in oropharyngeal epithelial cells. New Eng. J. Med. 310:1225, 1984.
8. Chang RS, Lewis JP, Reynolds RD, Sullivan MJ, Neuman J: Oropharyngeal excretion of Epstein-Barr virus by patients with lymphoproliferative disorders and by recipients of renal homografts. Ann. Intern. Med. 88:34, 1978.
9. Jones JF, Ray G, Minnich LL, Hicks MJ, Kibler R, Lucas DO: Evidence of active Epstein-Barr virus infection in patients with persistent, unexplained illness. Elevated anti-early antigen antibodies. Ann. Intern. Med. 102:1, 1985.
10. Evans AS, Neiderman JC, Cenabre LC, West B, and Richards VA: A prospective evaluation of heterophile and Epstein-Barr virus-specific IgM antibody tests in clinical and subclinical infectious mononucleosis: Specificity and sensitivity of the tests and persistence of antibody. J. Infect. Dis. 132:546, 1975.
11. Henle W, Henle GE, and Horowitz CA: Epstein-Barr virus specific diagnostic tests in infectious mononucleosis. Hum. Path. 5:551, 1974.
12. Lennette ET, and Henle W: Epstein-Barr virus infections: Clinical and serological features. Lab Management. p. 23, June, 1987.
13. Reedman BM, and Klein G: Cellular localization of an Epstein-Barr virus (EBV) associated complement-fixing antigen in producer and non-producer lymphoblastoid cell lines. Int. J. Cancer 11:499, 1973.
14. Henle G, Henle W, and Horowitz CA: Antibodies to Epstein-Barr virus-associated nuclear antigen in infectious mononucleosis. J. Infect. Dis. 130:231, 1974.
15. Horowitz CA, Henle W, Henle G, Rudnick H, and Lutts E: Long-term serological follow-up of patients for Epstein-Barr virus after recovery from infectious mononucleosis. J. Infect. Dis. 151:1150, 1985.
16. Horowitz CA, Henle W, Henle G, and Schmitz H: Clinical evaluation of patients with infectious mononucleosis and development of antibodies to the R component of the Epstein-Barr virus-induced early antigen complex. Am. J. Med. 58:330, 1975.
17. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service. Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health. U.S. Government Printing Office, Washington D.C., 4th Ed., 1999.
18. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration; Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed.Register 56:64175-64182, 1991.
19. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids and Tissues; Approved Guideline. NCCLS/CLSI Document M29, Vol.17(12), 1997.
20. CLSI. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance: Approved Guideline. CLSI document EP-12-A (ISBN 1-56238-468-6). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2002.
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

Appel gratuit (É-U) : 1-800-286-2111, Option 2

International : +1 908-526-3744

Fax: +1 908-526-2058

Site Web: www.zeusscientific.com

AtheNA Multi-Lyte et **SAVE Diluent** sont des marques de commerce de ZEUS Scientific, Inc.

Système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** EBV IgG Plus

Service clients aux États-Unis : contactez votre distributeur local.

Assistance technique aux États-Unis : contactez ZEUS Scientific ;

appelez pi écrivez à support@zeusscientific.com.

Service clients et assistance technique hors des États-Unis :

contactez votre distributeur local.

© 2021 ZEUS Scientific, Inc. Tous droits réservés.

