

UTILISATION PRÉVUE

Le système de test ZEUS ELISA IgG anti-rougeole permet le dépistage qualitatif d'anticorps IgG dirigés contre le virus de la rougeole dans le sérum humain. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

SIGNIFICATION ET CONTEXTE

La rougeole est une maladie virale très contagieuse résultant d'une infection par un paramyxovirus (genre *Morbillivirus*). Dans un délai de 8 à 12 jours après l'infection commence la phase prodromale de la rougeole, marquée par fièvre, toux, rhinite et conjonctivite. Dans bien des cas, l'apparition des symptômes prodromaux est suivie (2 à 3 jours plus tard) de l'apparition d'un énanthème spécifique (taches de Koplik) et d'une éruption maculopapuleuse généralisée (3 à 4 jours après le début de la maladie) (1). Dans les cas de rougeoles sans complications, le développement de l'éruption est suivi d'une forte fièvre un ou deux jours plus tard et d'une rapide défervescence le troisième ou le quatrième jour de l'éruption.

Dans des circonstances normales, l'apparition de symptômes prodromaux, surtout les taches de Koplik hautement spécifiques et pathognomoniques, suffit pour établir un diagnostic clinique. Depuis le lancement du vaccin contre la rougeole en 1963 toutefois, l'incidence de rougeole a sensiblement chuté (2). Par conséquent, les professionnels médicaux bénéficient d'une moindre expérience dans le diagnostic clinique de la maladie et peuvent exiger l'assistance d'un laboratoire à titre de confirmation. Le diagnostic de la rougeole peut se compliquer davantage par l'apparition d'une forme atypique de rougeole chez les personnes qui ont été immunisées par un vaccin inactivé, entre 1963 et 1967, et ont été réinfectées par la suite par le virus de type sauvage. La forme atypique de la rougeole peut être grave et être prise par erreur pour la fièvre pourprée des montagnes Rocheuses (3). En outre, la rougeole aiguë peut se compliquer par des surinfections bactériennes des voies respiratoires et de l'oreille moyenne. Les autres complications peuvent inclure une encéphalite post-infectieuse et une maladie rare, mais souvent mortelle, la panencéphalite sclérosante subaiguë (1).

Les anticorps dirigés contre le virus de la rougeole commencent à apparaître avec le développement de l'éruption. Une réponse transitoire des anticorps IgM (3 à 6 semaines) peut se produire avant ou avec les IgG. Les anticorps IgG atteignent un pic entre 2 et 6 semaines, diminuent progressivement sur 6 mois et leur niveau reste relativement stable par la suite. Suite à l'administration du vaccin de la rougeole atténué actif, des anticorps peuvent être dépistés 11 à 14 après l'inoculation (1). Des réinfections subcliniques peuvent se produire chez des personnes naturellement immunes ou vaccinées, ce qui produit une hausse du titrage des IgG spécifiques de la rougeole (1). En dépit du vaste programme de vaccination, de nombreuses personnes sont toujours susceptibles de contracter la rougeole suite à un échec fonctionnel du vaccin ou à une non-immunisation. La sérologie constitue un outil précieux pour confirmer l'état immunitaire de personnes précédemment vaccinées et une séroconversion chez les personnes récemment vaccinées. En outre, la sérologie de la rougeole peut être un outil précieux dans le diagnostic de la panencéphalite sclérosante subaiguë, qui peut se présenter des années après la primo-infection par le virus de la rougeole (3).

PRINCIPE DU TEST

Le système de test ZEUS ELISA IgG anti-rougeole est destiné à détecter les anticorps de classe IgG dirigés contre le virus de la rougeole dans le sérum humain. Les puits des barrettes à micro-puits plastiques sont sensibilisés par une absorption passive d'antigène de rougeole. 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 IgG 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'azoture de sodium comme agent de conservation sous une concentration inférieure à 0,1 % (volume d'eau) : contrôles, étalon et SAVE Diluent®.

Composant	Σ_{96}	Σ_{480}	Description
PLATE	1	5	Plaque : 96 puits configurés en douze bandes de 8 puits, enduits d'antigène de rougeole inactivé (souche Edmonston). Les bandes sont emballées dans un porte-bandes et placées avec du desséchant dans une enveloppe hermétiquement fermée.
CONJ	1	5	Conjugué : Solutions d'IgG antihumain d'origine caprine conjuguée à de la peroxydase de raifort (spécifique à la chaîne Fc), flacons de 15 ml à bouchon blanc. Prêt à l'emploi.
CONTROL +	1	2	Contrôle positif (sérum humain) : Ampoule(s) de 0,35 ml avec bouchon rouge.
CAL	1	4	Étalon (sérum humain) : Ampoule(s) de 0,5 ml avec bouchon bleu.
CONTROL -	1	2	Contrôle négatif (sérum humain) : Ampoule(s) de 0,35 ml avec bouchon vert.
DIL SPE	1	4	SAVE Diluent® : Flacon(s) de 30 ml à bouchon vert contenant du Tween-20, de l'albumine de sérum bovin et tampon phosphate salin. Prêt à l'emploi. REMARQUE : La solution SAVE Diluent® change de couleur lorsqu'elle est combinée à du sérum.
SOLN TMB	1	5	TMB : Flacon(s) de 15 ml à bouchon ambre contenant du tétraméthyl-3, 3', 5, 5'-benzidine (TMB). Prêt à l'emploi.
SOLN STOP	1	3	Solution d'arrêt : Flacon(s) de 15 ml à bouchon rouge contenant du 1M H ₂ SO ₄ , 0,7M HCl. Prêt à l'emploi.
WASHBUF 10X	1	5	Tampon de lavage concentré (10 x) : Dilution d'un volume de concentré dans neuf volumes d'eau distillée ou déionisée. Flacon(s) 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 interchangeée 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.

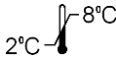
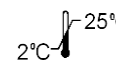
PRÉCAUTIONS

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 (9).
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'azote de sodium sous une concentration inférieure à 0,1 % (volume d'eau). Il a été signalé que l'azote de sodium pouvait former des accumulations de plomb ou d'azote 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'azote 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'azote de sodium comme agent de conservation. Des quantités résiduelles d'azote 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. Bassin de résidus et de désinfectant (p. ex. 10 % de javel domestique à 0,5 % d'hypochlorite de sodium).
3. Pipettes pouvant mesurer avec précision des quantités de 10 – 200 µl.
4. Pipette à canaux multiples pouvant mesurer avec précision des quantités de 50 – 200 µl.
5. Réservoirs de réactif pour pipettes à canaux multiples.
6. Flacon de lavage ou système de lavage de micropuits.
7. Eau distillée ou déionisée.
8. Cylindre gradué d'un litre.
9. Pipettes sérologiques.
10. Embouts de pipettes jetables.
11. Serviettes en papier.
12. Minuterie de laboratoire pour mesurer les étapes d'incubation.

CONDITIONS DE STOCKAGE

	<p>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.</p> <p>Conjugué – NE PAS CONGELER.</p> <p>Système de test non ouvert, étalon, contrôle positif, contrôle négatif, solution TMB, solution SAVE Dilent®</p>
	<p>Solution d'arrêt : 2 - 25°C</p> <p>Tampon de lavage (1 x) : 20 - 25°C pendant un maximum de 7 jours; 2 – 8 °C pendant un maximum de 30 jours.</p> <p>Tampon de lavage (10 x) : 2 - 25°C</p>

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. 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 (8, 9). 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 – 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 (7).

PROCÉDURE D'ESSAI

1. Sortir les composants de leur lieu de stockage et laisser les composants se réchauffer à température ambiante (20 – 25 °C).
2. Déterminer le nombre de micropuits nécessaires. Prévoir six déterminations de contrôle/étalon (un blanc réactif, un contrôle négatif, trois étalons et un contrôle positif) par série. Exécuter un blanc réactif pour chaque analyse. Vérifier les exigences de logiciel et de lecteur pour connaître les configurations appropriées contrôles/étalon. Replacer les bandes inutilisées dans le sachet en y laissant le déshydratant, puis fermer hermétiquement le sachet et conserver à 2 – 8 °C.

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

3. Préparer une dilution 1:21 (p. ex. 10 µl de sérum + 200 µl de 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.
4. Dans les puits individuels, ajouter 100 µl de contrôle, d'étalon et d'échantillon de patient (solutions diluées). S'assurer que les échantillons sont correctement mélangés. Utiliser un embout de pipette différent pour chaque échantillon.
5. Ajouter 100 µl de solution SAVe Diluent® dans les puits A1 comme blanc réactif. Vérifier les exigences de logiciel et de lecteur pour connaître les configurations appropriées de puits de blanc réactif.
6. Incuber la plaque à température ambiante (20 – 25 °C) pendant 25 ± 5 minutes.
7. Laver les bandes de micropuits 5 fois.
 - a. **Procédure de lavage manuel :**
 1. Secouer vigoureusement pour faire sortir le liquide des puits.
 2. Remplir chaque micropuits de tampon de lavage. S'assurer qu'aucune bulle d'air n'est emprisonnée dans les puits.
 3. Répéter les étapes 1 et 2 jusqu'à un total de 5 lavages.
 4. Secouer vigoureusement pour faire sortir la solution de lavage de tous les puits. Inverser la plaque sur une serviette en papier et donner des coups fermes pour faire sortir les résidus de solution de lavage dans les puits. Inspecter visuellement la plaque pour s'assurer qu'il ne reste aucun résidu de solution de lavage. Récupérer la solution de lavage dans un bassin jetable et traiter avec un désinfectant à la fin des procédures de la journée.
 - b. **Procédure de lavage automatisé :**

Si un système automatisé de lavage de micropuits est utilisé, régler le volume distribué à 300 – 350 µl par puits. Programmer un cycle de 5 lavages sans délai entre les lavages. Si nécessaire, la plaque de micropuits peut être retirée de l'appareil de lavage, puis inversée sur une serviette en papier et recevoir des coups fermes pour faire sortir les résidus de solution de lavage dans les puits.
8. Ajouter 100 µl de conjugué dans chaque puits, y compris dans les puits de blanc réactif, à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons.
9. Incuber la plaque à température ambiante (20 – 25 °C) pendant 25 ± 5 minutes.
10. Laver les micropuits conformément à la procédure décrite dans l'étape 7.
11. Ajouter 100 µl de TMB dans chaque puits, y compris dans les puits de blanc réactif, à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons.
12. Incuber la plaque à température ambiante (20 – 25 °C) pendant 10 ± 15 minutes.
13. Arrêter la réaction en ajoutant 50 µl de solution d'arrêt dans chaque puits, y compris dans les puits de blanc réactif, à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons. Les échantillons positifs passeront du bleu au jaune. Après avoir ajouté la solution d'arrêt, taper plusieurs fois sur la plaque pour que les échantillons soient bien mélangés.
14. Programmer le lecteur de micropuits pour lire avec une longueur d'onde de 450 nm et mesurer la densité optique de chaque puits par rapport au blanc réactif. Lire les résultats de la plaque moins de 30 minutes après avoir ajouté la solution d'arrêt.

RÉSUMÉ DE LA PROCÉDURE D'ANALYSE

1. Diluer le sérum 1:21.
2. Ajouter l'échantillon dilué dans les micropuits à raison de 100 µl/puits.
3. → Incuber 25 ± 5 minutes.
4. Laver.
5. Ajouter le conjugué – 100 µl/puits.
6. → Incuber 25 ± 5 minutes.
7. Laver.
8. Ajouter le TMB – 100 µl/puits.
9. → 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.

- 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.
- 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

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

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. Calculs :

- 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 du la boîte du système de test.
- Valeur seuil de densité optique** : Pour obtenir la valeur seuil de densité optique, multiplier le FC par la DO moyenne de l'étalon, déterminée ci-dessus.
(FC x DO moyenne de l'étalon = Valeur seuil de DO)
- Rapports valeur d'indice/DO** : Calculer le rapport valeur d'indice/DO de chaque échantillon en divisant sa valeur de DO par la valeur seuil de DO de l'étape b.

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

- 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

- Un rapport de DO égal ou inférieur à 0,90 signifie qu'il n'a pas été possible de détecter une quantité significative d'anticorps IgG anti-rougeole.
- Un rapport DO égal ou supérieur à 1,10 signifie que des anticorps IgG anti-rougeole ont été détectés.
- 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

- Aucun diagnostic ne doit être rendu sur la base des seuls résultats du test ZEUS ELISA IgG anti-rougeole. Les résultats des tests de dépistage de rougeole doivent être interprétés en conjonction avec une évaluation clinique et les résultats d'autres procédures diagnostiques.
- Le titrage anticorps d'un seul échantillon sérique ne peut être utilisé pour déterminer la présence d'une infection récente. Les paires d'échantillons (aigu et convalescent) doivent être prélevées et dosées simultanément pour démontrer la séroconversion.
- Les échantillons prélevés trop tôt durant un processus d'infection risquent de ne pas présenter des niveaux détectables d'IgG. Dans ces cas, un second échantillon peut être prélevé après 2 à 7 semaines et analysé en même temps que l'échantillon d'origine pour rechercher la séroconversion.

RÉSULTATS ESPÉRÉS

L'infection par le virus de la rougeole est liée à de nombreux facteurs, notamment l'âge, le niveau socio-économique et l'usage d'un vaccin contre la rougeole (1). En l'absence d'un vaste programme de vaccination contre la rougeole, la majorité des enfants (> 95 %) sont infectés avant l'âge de 15 ans. Dans les pays en développement, l'âge d'incidence de la rougeole se décale vers des tranches d'âges plus précoces ; plus de 50 % des enfants peuvent être infectés avant l'âge de 2 ans, et près de 100 % dès l'âge de 5 ans (1). Avec le lancement du vaccin contre la rougeole, l'incidence de la rougeole spécifique de l'âge s'est décalée vers le haut et l'incidence globale de rougeole a diminué (2).

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

1. Étude comparative

Le système de test ZEUS ELISA IgG anti-rougeole a été comparé à un autre test ELISA vendu dans le commerce pour le dépistage d'anticorps IgG dirigés contre le virus de la rougeole. L'étude comprenait 93 échantillons sériques. Les résultats sont résumés dans les tableaux 1 et 2 ci-dessous.

Tableau 1 : Résultats comparatifs

		Système de test ZEUS ELISA IgG anti-rougeole			
		Positif	Négatif	Ambivalent	Total
Test ELISA disponible dans le commerce	Positif	42	4*	3	49
	Négatif	1*	36	1	38
	Ambivalent	0	4	2	6
	Total	43	44	6	93

*Représente les échantillons discordants.

Calcul de sensibilité/spécificité après évaluation des échantillons discordants :

Sensibilité = 42/45 = 93,3 % Spécificité = 37/38 = 97,4 % % de concordance = 79/83 = 95,2 %

Tableau 2 : Résumé de la résolution des échantillons discordants

N° d'échantillon	Ratio avec test ZEUS ELISA IgG anti-rougeole	Résultats du test ELISA vendu dans le commerce	Ratio avec test ZEUS IFA IgG anti-rougeole
ND6	1.20	Négatif	Négatif
ND2	0.90	Positif	Positif
ND9	0.81	Positif	Positif
ND4	0.61	Positif	Positif
G16	0.09	Positif	Négatif

2. Reproductibilité

Pour évaluer la variabilité intra-essai et inter-essai de la procédure, 8 échantillons sériques allant de « fortement positif » à « négatif » ont été dosés. Huit répétitions de chaque échantillon ont été testées sur trois jours consécutifs. Le rapport de DO moyenne et le coefficient de variation (CV) ont été calculés pour chaque échantillon. La moyenne des DO et le coefficient de variation (CV) ont été calculés pour chaque échantillon. Les résultats de cette étude sont présentés ci-dessous.

Tableau 3	Intra-essai (n=8)									Inter-essai (n=24)		
	Jour 1			Jour 2			Jour 3					
Échant.	Rapport moyen	ET	% CV	Rapport moyen	ET	% CV	Rapport moyen	ET	% CV	Rapport moyen	ET	% CV
1	0,11	0,039	S.O.	0,10	0,031	S.O.	0,05	0,036	S.O.	0,09	0,044	S.O.
2	0,69	0,031	4,5	0,65	0,083	13	0,62	0,048	7,7	0,65	0,062	9,5
3	2009	0,185	8,9	1,99	0,146	7,3	1,99	0,099	5,0	2,02	0,149	7,4
4	1,29	0,058	4,5	1,18	0,107	9,1	1,22	0,075	6,2	1,23	0,095	7,7
5	2,95	0,280	9,5	2,75	0,222	8,1	2,82	0,174	6,2	2,84	0,234	8,2
6	43,7	0,325	7,4	4,15	0,244	5,9	4,22	0,274	6,5	4,25	0,287	6,8
7	7,94	0,580	7,3	7,95	0,501	6,3	8,09	0,445	5,5	7,99	0,494	6,2
8	9,83	0,490	4,9	9,72	0,526	5,4	10,1	0,213	2,6	9,90	0,455	4,6

RÉFÉRENCES

1. Norrby E, and Oxman MN: Measles Virus. In: Virology, Fields BN and Knipe DM (eds). 2nd Edition, Raven Press, Ltd., New York, 1013-1044, 1990.
2. Gershon AA, and Krugman S: Measles Virus. In: Diagnostic Procedures for Viral, rickettsial, and Chlamydial Infections. Lennette EH and Schmidt NJ (eds), 5th Edition. American Public Health Association, Inc. 655-693, 1979.
3. Norrby E: Measles Virus. In: Manual of Clinical Microbiology. Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, and Shadomy HJ (eds), 4th Edition. American Society for Microbiology, Washington, DC. 769-773, 1985.
4. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
5. Procedures for the collection and diagnostic blood specimens by venipuncture. 2nd edition. Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
6. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
7. 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

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

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 Tous droits réservés.



EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT Arnhem
The Netherlands