

Le système de test de l'ADNn ZEUS IFA est un test préstandardisé conçu pour la détection qualitative et semi-quantitative des anticorps dirigés contre l'ADN natif par immunofluorescence indirecte (IFI ou Indirect Fluorescent Antibody, IFA en anglais) et est utilisé pour les diagnostics *in vitro*.

SIGNIFICATION ET CONTEXTE

Les anticorps anti-acide désoxyribonucléique natif (ADNn) se trouvent fréquemment dans le sérum de patients atteints de lupus érythémateux disséminé (LED) spontané et de certains lupus médicamenteux (1 - 9). La présence d'anticorps anti-ADNn indique un LED évolutif et est étroitement corrélée à l'apparition de néphrite lupique (5, 10 - 13). La spécificité des anticorps anti-ADNn en présence de LED est nettement supérieure à celle des anticorps antinucléaires (5, 12). La détection des anticorps anti-ADNn est donc un outil de diagnostic précieux, ainsi qu'un outil utile au pronostic du diagnostic différentiel du LED (5, 10 - 13). La présence d'anticorps anti-ADNn dans le sérum d'un patient au diagnostic LED confirmé est considérée comme une indication de maladie évolutive récurrente ou de mauvaise réponse au traitement (5, 13). Par conséquent, une surveillance périodique des anticorps anti-ADNn chez les patients atteints de LED permet d'évaluer l'évolution clinique de la maladie et sa réponse au traitement (5, 10 - 13). Il y a plus de 15 ans, on découvrait les anticorps anti-ADNn dans le sérum des patients atteints de LED (1 - 4). Depuis, les anticorps anti-ADNn ont été étudiés à l'aide de nombreuses méthodes : diffusion en gélose (1, 14 - 15), fixation du complément (2, 14 et 16), agglutination (17, 18), tests ponctuels de l'ADN (13, 19), radio-immunoélectrophorèse (20), contre-immunoélectrophorèse (21, 22) et précipitation par sulfate d'ammonium (10, 23 et 24). Des efforts considérables ont été entrepris pour déterminer la spécificité des anticorps anti-ADN. Il est désormais clair qu'il existe des anticorps qui réagissent soit avec l'ADNn soit avec l'ADN simple brin (ADNsb) dénaturé ou les deux (8, 12, 14 et 20). On pense que les anticorps anti-ADNn sont corrélés avec l'activité clinique de la maladie (2, 5, 10 et 25). En outre, les anticorps dirigés contre l'ADN ont été élués des reins de patients atteints de LED et un rapport a démontré la présence de complexes ADN-anti-ADN dans le sérum des patients atteints de LED évolutif (26). Cependant, ces anticorps ont été trouvés chez des patients atteints ou non de néphrite lupique évolutive (27, 28).

Le système de test de l'ADNn ZEUS IFA est basé sur l'utilisation d'un substrat kinétoplaste de *Crithidia luciliae* décrit pour la première fois par Aarden *et al.* (29). De récents rapports provenant de plusieurs chercheurs affirment que cette méthode constitue un test de laboratoire utile pour détecter des anticorps anti-ADNn chez les patients atteints de lupus érythémateux disséminé (30 - 33). Ces études indiquent également que le système de test de l'ADNn par IFI produit des résultats comparables à la méthode radio-immunologique pour la détection d'anticorps anti-ADNn.

PRINCIPE DU TEST

Le système de test de l'ADNn ZEUS IFA est un test préstandardisé utilisant l'immunofluorescence indirecte pour la détermination qualitative et semi-quantitative des anticorps anti-ADNn dans le sérum d'un patient et le sérum de contrôle. La réaction se fait en deux temps :

1. Dans un premier temps, si des anticorps anti-ADNn sont présents, une réaction a lieu entre les anticorps anti-ADNn et le kinétoplaste du substrat *C. luciliae*.
2. Dans un deuxième temps, de l'immunoglobuline caprine antihumaine marquée à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC) est ajoutée au substrat. Si le sérum du patient contient des anticorps anti-ADNn, une réaction positive antigène-anticorps fluorescente de couleur vert pomme est observée lorsque les lames sont examinées sous un microscope à fluorescence. La réaction positive se reconnaît par une coloration intense dans les petits kinétoplastes du substrat *C. luciliae*.

COMPOSANTS DU SYSTÈME DE TEST

Matériel fourni :

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

REMARQUE : Le conjugué et les contrôles contiennent une combinaison de Procline (0,05 % vol./vol.) et d'azoture de sodium (<0,1 % mass./vol.) comme conservateurs. Le diluant SAVE Diluent® contient de l'azoture de sodium (<0,1 % mass./vol.) comme conservateur.

• • •	1. Lames de substrat <i>C. luciliae</i> : dix lames de 10 puits avec buvard.
CONJ	2. Conjugué : immunoglobuline caprine antihumaine marquée à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC). Contient de l'albumine sérique bovine (BSA) dans une solution tampon de phosphate et un contre-colorant. Un flacon de 3,5 ml avec bouchon ambre. Prêt à l'emploi.
CONTROL +	3. Contrôle positif (sérum humain) : produira une coloration positive couleur vert pomme du kinétoplaste dans les organismes <i>C. luciliae</i> . Un flacon de 0,5 ml avec bouchon rouge. Prêt à l'emploi.
CONTROL -	4. Contrôle négatif (sérum humain) : ne produira aucune coloration d'ADNn détectable. Un flacon de 0,5 ml avec bouchon vert. Prêt à l'emploi.
DIL SPE	5. SAVE Diluent® : un flacon de 30 ml à bouchon vert contenant un tampon phosphate salin. Prêt à l'emploi. REMARQUE : la solution SAVE Diluent® change de couleur lorsqu'elle est combinée à du sérum.
BUF PBS	6. Tampon phosphate salin (PBS) : pH 7,2 ± 0,2. Vider le contenu d'un paquet de tampon dans un litre d'eau distillée ou déionisée. Mélanger jusqu'à ce que tous les sels soient bien dissous. Quatre paquets permettent de préparer 4 litres.
MNTMED	7. Milieu de montage (glycérol tamponné) : deux flacons compte-gouttes de 3,0 ml avec bouchon blanc.

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 d'autres systèmes de test ZEUS IFA, du moment que les numéros de produits sont identiques : SAVE Diluent® (produit No : FA005CC), milieu de montage (produit No : FA0009S) et PBS (produit No : 0008S).
2. Le système de test contient également une étiquette relative aux composants contenant des informations spécifiques de lot à l'intérieur de la boîte du système de test.

PRÉCAUTIONS

1. Pour utilisation diagnostique *in vitro* uniquement.
2. Observer les précautions normalement applicables lors de toute manipulation de réactifs de laboratoire. En cas de contact oculaire, rincer immédiatement les yeux avec beaucoup d'eau et consulter un médecin. Porter des vêtements protecteurs appropriés, ainsi que des gants et une protection des yeux/du visage. Ne pas respirer les vapeurs de ce produit. Éliminer les déchets conformément à toutes les lois applicables.
3. Les puits des lames ne contiennent pas d'organismes viables. Cependant, les lames doivent être considérées comme du **matériel potentiellement contaminé** et être manipulées en conséquence.
4. Les contrôles sont du **matériel potentiellement contaminé**. Les matériaux d'origine de ces produits ont fait l'objet de tests approuvés n'ayant révélé aucune présence d'antigène du VIH-1, de HBsAg ni d'anticorps contre le VHC et le VIH. Cependant, 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 contenues dans le manuel des Centers for Disease Control/National Institutes of Health intitulé : « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories » (dernière édition) et conformément aux normes de l'OSHA concernant les agents pathogènes sanguins (20).

5. Pour obtenir des résultats précis, il est essentiel de respecter les durées et les températures d'incubation. **S'assurer que tous les réactifs sont équilibrés à température ambiante (20 - 25 °C) avant de commencer le test.** Remettre immédiatement les réactifs inutilisés dans leur récipient et observer les consignes de conservation.
6. Un mauvais lavage peut causer de faux résultats positifs ou négatifs. Avant d'ajouter le conjugué, s'assurer de minimiser la quantité de solution PBS résiduelle en utilisant le buvard. Ne pas laisser les puits sécher entre les incubations.
7. Le diluant SAve Diluent®, le conjugué et les contrôles contiennent de l'azoture de sodium à une concentration inférieure à 0,1 % (mass./vol.). Il a été signalé que l'azoture de sodium pouvait former des accumulations de plomb ou d'azoture de cuivre dans la tuyauterie des laboratoires, lesquelles peuvent causer des explosions lors du martèlement de la tuyauterie. Pour éviter ce risque, rincer abondamment les éviers avec beaucoup d'eau après y avoir jeté une solution contenant de l'azoture de sodium. Ce conservateur peut être toxique s'il est ingéré.
8. La dilution et l'adultération de ces réactifs peuvent produire des résultats erronés.
9. Ne jamais pipeter à la bouche. Éviter tout contact de la peau ou des muqueuses avec des réactifs ou des échantillons humains.
10. Éviter toute contamination microbienne des réactifs sous peine d'obtenir des résultats incorrects.
11. Une contamination croisée des réactifs et/ou des échantillons peut entraîner des résultats erronés.
12. Les récipients en verre réutilisables doivent être lavés et abondamment rincés de façon à enlever tout résidu de détergent.
13. Éviter les éclaboussures et la génération d'aérosols.
14. Ne pas exposer les réactifs à une lumière puissante durant leur conservation ou durant une incubation.
15. Laisser le paquet de lames s'équilibrer à température ambiante avant d'ouvrir l'enveloppe protectrice, afin de protéger les puits et le buvard de toute condensation.
16. Récupérer la solution de lavage dans une bassine jetable. Traiter la solution usagée 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. 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 nombreux réactifs faisant partie de ce système de test.
18. Ne pas appliquer de pression sur l'enveloppe des lames. Cela risquerait d'endommager le substrat.
19. Les composants de ce système de test sont appariés afin d'obtenir une sensibilité et une reproductibilité optimales. Ne pas substituer les réactifs par des réactifs provenant d'autres fabricants. Respecter soigneusement les instructions de la notice.
20. Les composants non ouverts/ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette, dans la mesure où les conditions de conservation recommandées sont rigoureusement respectées. Ne pas utiliser après la date de péremption. Ne pas congeler.
21. Le contre-colorant bleu Evans est potentiellement cancérigène. En cas de contact cutané, rincer abondamment à l'eau. L'éliminer conformément aux réglementations locales en vigueur.
22. Ne pas laisser les lames sécher durant la procédure. Selon les conditions ambiantes du laboratoire, il est possible qu'il soit nécessaire de placer les lames dans une pièce humide durant l'incubation.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Petites pipettes sérologiques Pasteur capillaires ou automatiques.
2. Embouts de pipettes jetables.
3. Petits tubes à essai, AQ-113 x 100 mm (ou de dimensions comparables).
4. Supports pour tubes à essai.
5. Cuve à coloration : une grande cuve à coloration avec un petit dispositif de mélange magnétique sera idéale pour laver les lames entre les incubations.
6. Lamelles, 24 x 60 mm, épaisseur No 1.
7. Eau distillée ou déionisée.
8. Microscope à fluorescence correctement équipé.
9. Bécher gradué de 1 litre.
10. Minuterie de laboratoire pour mesurer les étapes d'incubation.
11. Bassine jetable et de désinfectant (c'est-à-dire 10 % de javel domestique - 0,5 % d'hypochlorite de sodium).

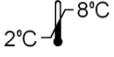
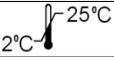
Les systèmes de filtres suivants (ou des systèmes équivalents) sont satisfaisants pour un usage de routine avec des microscopies à fond noir avec lumière transmise ou incidente :

Lumière transmise			
Source lumineuse : vapeur de mercure 200 W ou 50 W			
Filter d'excitation		Filter d'arrêt	Filter d'atténuation du rouge
KP490		K510 ou K530	BG38
BG12		K510 ou K530	BG38
FITC		K520	BG38
Source lumineuse : tungstène – halogène 100 W			
KP490		K510 ou K530	BG38
Lumière incidente			
Source lumineuse : vapeur de mercure 200, 100, 50 W			
Filter d'excitation	Miroir dichroïque	Filter d'arrêt	Filter d'atténuation du rouge
KP500	TK510	K510 ou K530	BG38
FITC	TK510	K530	BG38
Source lumineuse : tungstène – halogène 50 et 100 W			
KP500	TK510	K510 ou K530	BG38
FITC	TK510	K530	BG38

RÉLEVEMENT DES ÉCHANTILLONS

1. ZEUS Scientific recommande que l'utilisateur prélève les échantillons conformément au document M29 du CLSI intitulé « Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infectious Diseases ». 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 potentiellement infectieux.
2. Utiliser uniquement du sérum sanguin fraîchement prélevé et correctement réfrigéré, prélevé selon la procédure de ponction veineuse aseptique approuvée pour ce test (34, 35). N'ajouter aucun anticoagulant ou conservateur. Éviter d'utiliser du sérum hémolysé, lipémique ou ayant été contaminé par des bactéries.
3. 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 entre 2 et 8 °C pendant un maximum de 48 heures. Si la réalisation du test est retardée, le sérum sanguin peut être stocké à -20 °C ou moins. Éviter les cycles multiples de congélation/décongélation, qui peuvent causer une perte d'activité anticorps et produire des résultats erronés. Il est de la responsabilité des laboratoires de consulter tous les documents de référence disponibles et/ou leurs propres études afin de déterminer les critères de stabilité appropriés pour leur laboratoire (37).

CONDITIONS DE CONSERVATION

	Système de test non ouvert.
	Milieu de montage, conjugué, SAVe Diluent®, lames, contrôles négatifs et positifs.
	PBS réhydraté (stable pendant 30 jours).
	Sachets de tampon phosphate salin (PBS).

PROCÉDURE DU TEST

- Sortir les lames de leur lieu de conservation réfrigéré et laisser les lames se réchauffer à température ambiante (20 - 25 °C). Déchirer l'enveloppe protectrice pour l'ouvrir et sortir les lames. **Ne pas appliquer de pression sur les côtés plats de l'enveloppe protectrice.**
- Identifier chaque puits selon le sérum de patient et les contrôles. **REMARQUE : les contrôles doivent être utilisés non dilués.** Préparer une dilution à 1:10 (p. ex. 10 µl de sérum + 90 µl de SAVe Diluent® ou PBS) pour chaque sérum de patient. **Le SAVe Diluent® changera de couleur pour confirmer que l'échantillon a été combiné au diluant.**
Options de dilution :
 - Les utilisateurs peuvent titrer le contrôle positif jusqu'au point de fin pour l'employer comme contrôle semi-quantitatif (1+ minimalement réactif). Dans un tel cas, le contrôle doit être dilué avec deux volumes de SAVe Diluent® ou PBS. Lorsque l'évaluation est réalisée par ZEUS Scientific, la dilution de point de fin est établie et imprimée sur le flacon de contrôle positif (± 1 dilution). Il est important de signaler qu'à cause des variations propres à chaque laboratoire (équipement, etc.), le laboratoire doit établir son propre point de fin de titrage attendu pour chaque lot de contrôle positif.
 - Lors du titrage des spécimens prélevés sur des patients, les dilutions initiales et toutes les dilutions subséquentes doivent être préparées uniquement avec le SAVe Diluent® ou le PBS.
- À l'aide d'un distributeur approprié (listé ci-dessus), distribuer 20 µl de chaque contrôle et de chaque sérum de patient dilué dans les puits appropriés.
- Incuber les lames à température ambiante (20 – 25 °C) pendant 30 minutes.
- Rincer délicatement les lames avec du PBS. **Ne pas diriger un jet de PBS directement dans les puits d'essai.**
- Laver les lames en deux intervalles de 5 minutes, en changeant de PBS entre les lavages.
- Retirer une à une les lames du tampon PBS. Inverser la lame et les puits principaux dans les trous des buvards fournis. Éponger la lame en essuyant le côté opposé avec une serviette absorbante. **ATTENTION :** placer le buvard et la lame sur une surface plane et dure. L'utilisation d'essuie-tout pour éponger risque de détruire la matrice de lames. **Ne pas laisser les lames sécher durant la procédure du test.**
- Ajouter 20 µl de conjugué dans chaque puits.
- Répéter les étapes 4 à 7.
- Déposer 3 à 5 gouttes de milieu de montage sur chaque lame (entre les puits) et recouvrir d'une lamelle. Examiner immédiatement les lames avec un microscope à fluorescence approprié.

REMARQUE : s'il n'est pas possible d'examiner immédiatement les lames, sceller la lamelle à l'aide de vernis à ongles transparent et mettre au réfrigérateur. Il est recommandé d'examiner les lames le jour même du test.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

- Lors de l'exécution d'un test, il faut inclure un contrôle positif, un contrôle négatif et un contrôle tampon.
- Il est recommandé de lire le contrôle positif et le contrôle négatif avant d'évaluer les résultats du test. Il sera ainsi possible d'établir les références nécessaires pour interpréter l'échantillon testé. Si les contrôles ne sont pas conformes à la description, les résultats sont invalides.
 - Contrôle négatif : caractérisé par l'absence de coloration fluorescente du kinétoplaste. Une coloration du noyau uniquement et/ou une coloration du corps basal doit être interprété comme un résultat négatif.
 - Contrôle positif : caractérisé par une coloration fluorescente de couleur vert pomme du kinétoplaste. Une coloration du corps basal et du kinétoplaste doit être considéré comme un résultat positif.
- Des contrôles supplémentaires peuvent être testés conformément aux réglementations gouvernementales en vigueur et aux normes des organisations d'accréditation compétentes.

REMARQUES :

- L'intensité de la fluorescence observée peut varier selon le microscope et le système de filtre utilisé.
- Le kinétoplaste est généralement situé plus près du corps basal que le noyau ; cependant, à cause de la nature fluide de l'endoplasme, la position du kinétoplaste peut varier d'une cellule à l'autre (36).
- Examiner uniquement un organisme bien défini dans chaque champ. Certains organismes n'ont pas une apparence optimale ; la morphologie peut varier d'un organisme à l'autre à cause de leur fixation, de leur stade de croissance et/ou de leur orientation sur la lame lors du séchage (36).

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

- Un titre inférieur à 1:10 est considéré négatif.
- Test positif : observation d'une coloration vert pomme sur le petit kinétoplaste du substrat *C. luciliae*, avec une dilution 1:10, sur une échelle de 1+ à 4+. 1+ correspond à une réaction faible et 4+ à une réaction forte. Tous les sérums positifs à 1:10 doivent être titrés à la dilution de point de fin. Cette opération est réalisée en faisant des dilutions en série de 1:10, 1:20, 1:40, etc. avec uniquement des résultats positifs. Le point de fin est le taux de dilution le plus élevé produisant une réaction positive.
- La coloration simultanée du petit kinétoplaste et du plus grand noyau *C. luciliae* adjacent doit être interprétée comme un résultat positif.
- Une coloration poilaire à la base des flagelles n'est pas significative.
- Une coloration du noyau seulement ne doit pas être interprétée comme un résultat positif.

REMARQUE : un effet de prozone peut être observé avec une faible dilution du sérum d'un patient. Si un tel effet semble possible, il est suggéré de retester l'échantillon du patient avec un taux de dilution plus élevé (p. ex. 1:40 ou 1:80).

LIMITES DU TEST

- Le système de test d'ADNn ZEUS IFA est un outil d'aide au diagnostic. Il est donc essentiel que les résultats d'anticorps anti-ADNn soient interprétés par une autorité médicale compétente en tenant compte de l'ensemble des données cliniques du patient.
- Les patients souffrant de LED et suivant un traitement à base de stéroïdes peuvent avoir un résultat négatif (5, 8 et 9).
- Certains médicaments, particulièrement l'hydralazine, peuvent générer une production d'anticorps anti-ADNn (5, 6 et 8).

RÉSULTATS ATTENDUS

Les valeurs attendues chez une population normale sont un résultat négatif avec une dilution de départ à 1:10. Cependant, certains médicaments peuvent causer un résultat positif d'anticorps anti-ADNn (5, 6).

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Le système de test d'ADNn ZEUS IFA a été évalué en parallèle avec une procédure de référence de détection d'anticorps antinucléaires (AAN) utilisant un substrat de foie de rat. Cinquante-deux (52) sérums contenant des AAN provenant de patients ayant fait l'objet de diagnostics divers (incluant de LED) ont été retestés avec le système de test d'ADNn ZEUS IFA. Le tableau suivant résume les résultats comparatifs.

Résumé de l'étude comparative du système de test d'ADNn ZEUS IFA : AAN et ADNn avec diverses maladies			
Nombre de patients	Diagnostic	Résultats AAN positifs	Résultats ADNn positifs
11	Lupus disséminé	11	9
8	Hypertension ou urémie	8	0
3	Scélérodermie	3	0
4	Polyarthrite rhumatoïde	4	0
1	Syndrome de Sjögren	1	0
5	Chirurgie à cœur ouvert	5	0
20	Autre diagnostic ou aucun diagnostic	20	0
52*		52*	9*

*Les données présentées dans le tableau ci-dessus révèlent la spécificité relative du test d'ADNn pour diagnostiquer le lupus érythémateux disséminé (LED). Des 11 patients atteints de LED, neuf se sont avérés être à un stade aigu de néphrite lupique, ce diagnostic ayant été confirmé par une biopsie rénale. Les deux patients LED ayant obtenu un résultat négatif aux tests d'anticorps anti-ADNn ne souffraient d'aucune maladie rénale évolutive. Aucun autre patient souffrant d'autres maladies n'a présenté d'anticorps anti-ADNn dans le sérum, bien que ces 41 patients aient tous obtenu un titre positif de détection d'AAN avec des dilutions variant de 1:40 à 1:40 000.

Spécificité : le système de test de l'ADNn ZEUS IFA peut détecter des anticorps IgG, IgA et IgM dans le cadre d'analyses avec diffusion en gélose et d'analyses immunoelectrophorétiques du conjugué d'immunoglobuline antihumaine marquée à la FITC.

Étude d'interférence : une investigation a été menée afin d'évaluer l'impact potentiel des substances fréquemment rencontrées interférant avec le système de test de l'ADNn ZEUS IFA. Cette investigation a été conduite en utilisant comme directive, les informations du document EP7-A2 du CLSI (*Interference Testing in Clinical Chemistry – Directive approuvée, seconde édition*). Brièvement, trois échantillons de sérum sont obtenus. Les échantillons sont caractérisés de la manière suivante : négatif pour l'ADNn (~1 UI/ml), positif faible pour l'anticorps anti-ADNn (~200 UI/ml) et positif élevé pour l'anticorps anti-ADNn (~1 000 UI/ml). Les substances interférentes ont été ajoutées à chacun des trois échantillons de sérum à deux concentrations différentes : élevée et faible. Des matrices de contrôle ont été préparées pour tenir compte de l'ajout fait aux échantillons. Les substances interférentes utilisées et la quantité ajoutée sont présentées dans le tableau ci-dessous :

Substance interférente	Concentration élevée	Concentration faible	Matrice
Albumine (humaine)	50 mg/ml	35 mg/ml	Sérum
Bilirubine	0,15 mg/ml	0,01 mg/ml	Sérum – 10 % PBS
Cholestérol	2,5 mg/ml	1,5 mg/ml	Sérum – 10 % éthanol
Hémoglobine	200 mg/ml	100 mg/ml	Sérum
Intralipids	7,5 mg/ml	3 mg/ml	Sérum
Triglycérides	5 mg/ml	1,5 mg/ml	Sérum – 10 % éthanol

Les résultats de l'étude ont montré qu'il n'y avait aucune incidence sur l'interprétation des échantillons. Le système de test d'ADN ZEUS IFA ne risque donc pas de donner des résultats erronés en raison de la présence de substances interférentes.

Étude de réactivité croisée : une investigation a été menée afin d'évaluer la réaction croisée potentielle d'autres auto-anticorps généralement présents avec le substrat utilisé dans le système de test de l'ADNn ZEUS IFA. Pour chacun, cinq échantillons positifs présentant des taux importants d'auto-anticorps IgG dirigés contre les auto-antigènes suivants : centromère, SSA, SSB, Jo-1 et Scl-70 ont été achetés. Ces 25 échantillons de sérum ont été analysés avec le système de test de l'ADNn ZEUS IFA et ils ont tous donné des résultats négatifs. Cette étude indique que le système de test de l'ADNn ZEUS IFA n'est pas susceptible à la réactivité croisée d'autres auto-anticorps communs.

Limites de détection : au moment de l'investigation, le standard Wo/80 pour l'ADNdb de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) n'était plus disponible. En l'absence de ce standard, on a utilisé un échantillon de sérum ADNdb positif bien caractérisé afin d'établir la limite de détection. Cet échantillon a été soigneusement évalué par un immunodosage pour l'ADNdb approuvé par la FDA (résultats rapportés en UI/ml) et s'est avéré contenir ~3 000 UI/ml d'anticorps anti-ADNdb. Grâce à cet échantillon, il a été déterminé que la limite de détection du système de test de l'ADNn ZEUS IFA était de 8,33 UI/ml.

Reproductibilité intralot : cette étude a été menée en utilisant un lot du système de test de l'ADNn ZEUS IFA. Trois échantillons de niveaux de réactivité différente ont été utilisés : un échantillon négatif (~1 UI/ml), un échantillon modérément positif (~200 UI/ml) et un échantillon fortement positif (~1 000 UI/ml). Chaque échantillon a été analysé par IFI sur une lame de 10 puits pour 10 répliques. Le tableau ci-dessous présente les résultats de cette étude :

Les 10 répliques ayant un niveau fortement positif (1 000 UI/ml) ont toutes obtenu 4+.
Les 10 répliques ayant un niveau modérément positif (200 UI/ml) ont toutes obtenu 2+.
Les 10 répliques ayant un niveau négatif (1 UI/ml) sont toutes restées négatives.

Reproductibilité interlot : cette étude a été menée en utilisant trois lots différents du système de test de l'ADNn ZEUS IFA. Trois échantillons de niveaux de réactivité différente ont été utilisés : un échantillon négatif (~1 UI/ml), un échantillon modérément positif (~200 UI/ml) et un échantillon fortement positif (~1 000 UI/ml). Chaque échantillon a été analysé par IFI sur une lame pour répliques, une fois par jour durant cinq jours. Le tableau ci-dessous présente les résultats de cette étude :

		Sérum fortement positif					Sérum modérément positif					Sérum négatif				
		Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5
Lot No 1-16050011	Répli. (1)	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	2+	2+	0	0	0	0	0
	Répli. (2)	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	2+	2+	0	0	0	0	0
Lot No 2-16050012	Répli. (1)	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	3+	3+	0	0	0	0	0
	Répli. (2)	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	3+	3+	0	0	0	0	0
Lot No 3-16050058	Répli. (1)	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	2+	2+	0	0	0	0	0
	Répli. (2)	4+	4+	4+	4+	4+	2+	2+	2+	2+	2+	0	0	0	0	0

Les résultats pour l'ADNn des expériences effectuées pour l'intralot et l'interlot/interjour ont satisfait les critères d'acceptation définis plus haut. Par conséquent, il a été démontré que le système de test de l'ADNn par IFI obtenait des résultats hautement reproductibles lors des études de reproductibilité intralot et interlot.

RÉFÉRENCES

- Robbins WC, Holman HR, Deicher HRG, et al: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:575, 1957.
- Seligman M: Cr. Acad. Sci. (Paris), 245:243, 1957.
- Cepellini R, Polli E, Celada F: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 96:572, 1957.
- Deicher HRG, Holman HR, Kunkel HG: J. Exp. Med. 109:97, 1959.

5. Dubois EL: J. Rheumatol. 2:204, 1975.
6. Epstein WV: J. Rheumatol. 2:215, 1975.
7. Blomgren SE: Seminars Heamtol. 10:345, 1973.
8. Alarcon-Segovia D, Fishbein E: J. Rheumatol. 2:167, 1975.
9. Klajman A, Farkas R, Gold E, Ben-Efraim S: Clin. Immunol. Immunopath. 3:525, 1975.
10. Pincus T, Schur PH, Rose JA: N. Engl. J. Med. 281:701, 1969.
11. Koffler D, Carr RI, Agnello V, *et al*: Science 166:1648, 1969.
12. Gershwin ME, Steinberg AD: Arthritis. Rheum. 17:947, 1974.
13. Casals SP, Friou GJ, Myers LI: Arthritis. Rheum. 7:379, 1964.
14. Arana R, Seligmann M: J. Clin. Invest. 46:1867, 1967.
15. Tan EM, Schur PH, Carr RI, *et al*: J. Clin. Invest. 45:1732, 1966.
16. Stollar D, Levine L, Leher HI, *et al*: Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 48:874, 1962.
17. Bosicevich J, Nasou JP, Kayhoe DE: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 103:636, 1960.
18. Jokinen EJ, Julkunen H: Ann. Rheum. Dis. 24:477, 1965.
19. Matrer R, Helgeland SM, Tonder O: J. Immunol. Methods 5:345, 1974.
20. Bickel YB, Barnett EV, Pearson CM: Clin. Exp. Immunol. 3:641, 1968.
21. Davis JS, IV: Arthritis. Rheum. 14:377, 1971.
22. Johnson GD, Edmonds JP, Holbrow EJ: Lancet 2:883, 1973.
23. Wold RT, Young FE, Tan EM, *et al*: Science 161:806, 1968.
24. Farr Rd: J. Infect. Dis. 103:239, 1958.
25. Koffler D, Schur PH, Kunkel HG: J. Exp. Med. 126:607, 1967.
26. Harbeck RJ, Bardana EJ, Kohler PF, *et al*: J. Clin. Invest. 52:789, 1973.
27. Cohen SA, Hughes GRV, Noel GL, *et al*: Clin. Exp. Immunol. 8:551, 1971.
28. Natali PG, Tan EM: J. Clin. Invest. 51:345, 1972.
29. Aarden LA, deGroot ER, Feltkemp EW: Ann. NY Acad. Sci. 254:505, 1975.
30. Slater NGP, Cameron JS, and Lessof MH: Clin. Exp. Immunol. 25:480, 1976.
31. Stingl G, Meingassner JG, Swelty P, *et al*: Clin. Immunol. Immunopath. 6:131, 1976.
32. Davis P, Christian B, and Russel AS: J. Rheumatol. 4:15, 1977.
33. Tourville DR, and Benn V: Microbiological Proceeding, 1977.
34. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. Second Edition: Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
35. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
36. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
37. 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
 Numéro gratuit (valable aux USA uniquement) : 1-800-286-2111, option 2
 International : +1 908-526-3744
 Fax : +1 908-526-2058
 Site Web : www.zeusscientific.com
 ZEUS IFA et SAvE Diluent[®] sont des marques déposées de ZEUS Scientific, Inc.

Si vous désirez une assistance clientèle aux États-Unis, veuillez contacter votre distributeur local.

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

Les clients ayant besoin d'assistance clientèle ou technique hors des États-Unis doivent contacter leur distributeur régional.

©2019 ZEUS Scientific, Inc. Tous droits réservés.

