

UTILISATION PRÉVUE

Le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte**® MMV IgG Plus a été conçu pour la détection qualitative présomptive d'anticorps IgG dirigés contre les virus de la rougeole, des oreillons et de la varicelle-zona (VZ) dans du sérum humain avec le système AtheNA Multi-Lyte®. Ce test vise à détecter la présence d'une infection passée aux virus de la rougeole, des oreillons ou de la varicelle-zona (VZ), ainsi qu'à déterminer l'état sérologique de diverses personnes, incluant des femmes en âge de procréer. 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, les nourrissons ou les enfants. Ce test a été conçu uniquement pour des diagnostics *in vitro*.

SIGNIFICATION ET CONTEXTE

La **rougeole** est une maladie virale très contagieuse résultant d'une infection par un paramyxovirus (genre *Morbillivirus*). Huit à douze jours après l'infection, une phase prodromique de la rougeole débute, caractérisée par de la fièvre, de la toux, une rhinite (coryza) et possiblement une conjonctivite. Dans bien des cas, l'apparition des symptômes prodromiques est suivie (2 à 3 jours plus tard) de l'apparition d'un élanthème 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 prodromiques, surtout les taches de Koplik hautement spécifiques et pathognomoniques, suffit pour établir un diagnostic clinique. Toutefois, depuis le lancement du vaccin contre la rougeole en 1963, 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 nécessiter l'assistance d'un laboratoire à titre de confirmation.

Le diagnostic de la rougeole peut être compliqué par l'apparition d'une forme atypique chez les personnes ayant été immunisées avec un vaccin inactivé contre la rougeole entre 1963 et 1967 pour ensuite être réinfectés par le virus de type sauvage (3). La forme atypique de la rougeole peut avoir des effets graves et créer une confusion clinique avec la fièvre pourprée des montagnes Rocheuses. En outre, les cas de rougeole aiguë peuvent être compliqués par des infections bactériennes secondaires 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 jours 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).

Les **oreillons** constituent une maladie aiguë, généralement auto-limitative et contagieuse avec une fièvre modérée de courte durée. La parotide bilatérale et unilatérale est la caractéristique clinique la plus commune. Une atteinte secondaire peut toucher les testicules, les ovaires, le système nerveux central et, plus rarement, le pancréas, les nerfs périphériques, les yeux, l'oreille interne et d'autres organes (4).

La période d'incubation du virus des oreillons se situe entre 18 et 21 jours. L'infection est transmise par gouttelettes via les voies respiratoires supérieures. Entre 25 et 50 pour cent de toutes les infections sont silencieuses. L'immunité après l'infection semble être permanente. Cependant, des réinfections silencieuses peuvent se produire bien que ce soit probablement un événement peu fréquent. Un vaccin à virus vivant atténué est disponible ce qui induit des taux plus bas d'anticorps mesurables par rapport à ceux produits lors d'une infection naturelle (4, 5). Un seul type antigénique du virus des oreillons est connu. Certaines réactions croisées antigéniques et réponses anamnestiques en anticorps existent avec d'autres paramyxovirus, particulièrement Parainfluenza de type 1, dans certains tests sérologiques (4, 5 et 6).

De nombreux tests de recherche d'anticorps anti-oreillons ont été décrits. Les méthodes traditionnelles de neutralisation virale, inhibition par hémagglutination (IH) et fixation du complément (FC) ont l'inconvénient d'être lourdes de mise en œuvre en routine ou ont un manque de sensibilité et de fiabilité. Les techniques de FC et d'IH souffrent d'une faible sensibilité et la réactivité croisée avec des anticorps d'autres paramyxovirus peuvent poser problème (4, 5). Les méthodes en immunofluorescence (IFA) et ELISA ont l'avantage d'être sensibles et permettent d'identifier séparément les anticorps IgG et IgM afin de déterminer le statut immunologique du patient et le diagnostic d'une infection aiguë (4, 5).

Le virus **varicelle-zona** (VZ) est un pathogène courant chez les humains. L'évolution clinique du virus VZ chez l'homme entre généralement dans l'une ou l'autre des deux catégories suivantes : varicelle et herpès zostérien (zona). Les grands progrès significatifs qui permettent de mieux comprendre la nature de ces agents ont bénéficié de la contribution initiale de Weller et de ses collègues, qui ont démontré la méthode d'isolement et de propagation en série du virus (7, 8) et, plus récemment, l'épidémiologie et le contrôle du virus (9). Des isolats du virus ont été obtenus auprès de patients atteints de la varicelle et de zona se sont avérés identiques sur le plan de leur effet cytopathologique (26), de leur antigénicité (8) et de leur morphologie (10, 11). Plus près de nous, ces virus ont montré un ADN de poids moléculaire identique (12) et des motifs identiques d'endonuclease de restriction (13).

Les symptômes cliniques de la varicelle primaire incluent une période prodromique de maux de tête, malaise et fièvre précédant l'exanthème à moins qu'ils ne soient constitués par les éruptions caractéristiques. L'éruption est polymorphe et subit une évolution allant d'un stade maculaire à papuleux, puis vésiculaire. Cette éruption se développe de manière caractéristique par vagues successives de nouvelles lésions sur une période de 3 à 5 jours.

La varicelle affecte généralement les enfants scolarisés dans une école primaire. Les adultes, les adolescents et les nouveau-nés sont également susceptibles de contracter l'infection. La maladie apparaît habituellement durant l'hiver et le printemps et peut atteindre un niveau épidémique chez une population sensible. Les infections causées par la varicelle en début de grossesse ont rarement été liées à des anomalies congénitales. Les infections par le virus de la varicelle contractées par la femme enceinte au moment de l'accouchement peuvent produire une infection éventuellement mortelle chez le nouveau-né. Elles peuvent également s'avérer mortelles chez les patients atteints de diverses pathologies (14, 15 et 16). La transmission potentielle d'une maladie nosocomiale n'est pas rare.

L'herpès zostérien (zona) est une maladie qui touche essentiellement les adultes, se produisant dans la plupart des cas chez les plus de 50 ans. Contrairement à la nature épidémique et saisonnière de la varicelle, l'herpès zostérien présente un schéma d'occurrence aléatoire. On pense que l'herpès zostérien correspond à la réactivation d'un virus préexistant de la varicelle qui se trouve à l'état latent depuis une primo-infection par la varicelle. L'herpès zostérien peut frapper même les personnes ayant des anticorps créés par une exposition antérieure au virus de la varicelle. Les personnes atteintes d'herpès zostérien présentent des zones érythémateuses et maculopapulaires qui se développent sur une zone cutanée desservie par un nerf afférent. Des vésicules, isolées ou regroupées, apparaissent ensuite, généralement accompagnées d'une douleur qui dans certains cas peut être extrême (17).

D'après le constat épidémiologique de la transmission du VZ par aéroportage et éventuellement par squames cutanées, on suppose que le virus pénètre par les voies respiratoires (18). Après dissémination du VZ à partir du sang, il atteint rapidement la peau et se dépiste dans l'endothélium, avant d'atteindre les cellules de

l'épiderme avec accumulation de fluide entre la couche de Malpighi et l'épiderme externe pour former une vésicule (19). Cette vésicule devient le foyer d'une activité immunologique intense avec infiltration initiale de leucocytes polymorphonucléaires qui restent les cellules inflammatoires prédominantes, comme observé dans l'herpès zostérien (20). Par la suite, les cellules mononucléaires migrent dans la vésicule.

PRINCIPE DU TEST

Le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus a été conçu pour la détection d'anticorps de classe IgG contre une les virus de la rougeole, des oreillons et de la varicelle-zona (VZ) 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) ; dans ce cas-ci, l'essai utilise trois populations primaires de billes (pour la rougeole, les oreillons et la varicelle-zona). 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'azoture 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	1. Suspension de billes : Contient des billes de polystyrène séparées et distinctes de 5,6 microns conjuguées avec l'antigène de la rougeole (souche Edmonton partiellement purifiée obtenue à partir de cellules Vero), l'antigène des oreillons (souche Enders partiellement purifiée obtenue à partir de cellules LLC-MK2) et l'antigène VZV (souche Ellen partiellement purifiée d'origine humaine fibroblastes). 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.
CONJ		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.
WASHBUF	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 (21, 22).
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 aspiration 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 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.
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 résidus 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 Diluent®
	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) (23).
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 (26).

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 MMV 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 tout 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.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. **Calculs**
 - a. Étalonnage de l'essai : Le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV 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'analyte : Une valeur seuil a été assignée à chaque analyte du système de test ZEUS AtheNA Multi-Lyte MMV 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** : À l'origine, la valeur seuil de ce test était définie par rapport à un panel d'échantillons négatifs. Chaque lot suivant a été testé par rapport à un panel d'échantillons caractérisés et les valeurs signalées étaient normalisées à l'aide du CD d'étalonnage spécifique au lot.
 - b. **Interprétation des analytes de rougeole, des oreillons et de varicelle-zona** : Les valeurs unitaires d'échantillon des analytes sont interprétées comme suit :
 - i. Un résultat **AtheNA Multi-Lyte** < 100 UA/ml indique un taux non détectable d'anticorps IgG dirigés contre les virus de la rougeole, des oreillons ou de la varicelle-zona et le sérum doit être signalé comme non réactif aux anticorps IgG.

- ii. Un résultat **AtheNA Multi-Lyte** > 120 UA/ml est présumé positif pour les anticorps IgG dirigés contre les virus de la rougeole, des oreillons ou de la varicelle-zona. Un résultat de test positif présume une infection actuelle ou passée, ou encore une immunisation antérieure aux virus de la rougeole, des oreillons ou de la varicelle-zona ; le sérum doit être signalé comme présumé positif à la présence d'anticorps IgG.
- iii. Les échantillons dont les résultats **AtheNA Multi-Lyte** sont dans l'intervalle d'ambivalence (100 à 120 UA/ml) doivent être retestés en deux exemplaires. Les échantillons répétitivement ambivalents doivent être testés avec une autre procédure sérologique, notamment le test ZEUS ELISA. En outre, les échantillons répétitivement ambivalents doivent donner lieu à une nouvelle évaluation avec un nouvel échantillon prélevé une à trois semaines plus tard.
- iv. 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.
- v. La valeur numérique du résultat final au-dessus de la valeur seuil n'est pas révélatrice de la quantité d'anticorps anti-IgG. Des augmentations significatives des quantités d'anticorps entre les échantillons en phase aiguë et en phase de convalescence n'ont pas été observées.
- vi. Un résultat de test négatif n'exclut pas une immunité à une infection aux virus de la rougeole, des oreillons ou de la varicelle-zona. Chez certains patients, les niveaux d'anticorps IgG peuvent chuter sous le seuil de détection de cet essai.

LIMITES DU TEST

- Le test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV 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.
- Les caractéristiques de performance de ce système de test n'ont pas été établies avec des maladies associées à la syphilis.
- 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'analyte dans une population de patients donnée.
- Des échantillons hémolytiques, ictériques ou lipémiques peuvent fausser le résultat de cette analyse. Par ailleurs, des échantillons présentant des taux anormaux d'IgG et de facteur rhumatoïde peuvent interférer avec les résultats du test. Éviter d'utiliser de tels échantillons.
- Il est possible que les résultats de patients immunodéprimés soient difficiles à interpréter.
- Les caractéristiques de performance de ce dispositif n'ont pas été établies pour des matrices autres que du sérum sanguin.
- Les caractéristiques de performance de ce dispositif n'ont pas été établies pour des échantillons contenant des anticorps hétérophiles connus pour causer de fausses positivités dans divers immunoessais.
- Les caractéristiques de performance n'ont pas été établies sur des sujets vaccinés afin de déterminer si l'essai détecte une réaction immunitaire à un vaccin.
- Un seul résultat positif indique simplement une exposition immunologique antérieure ; le niveau de réaction aux anticorps ou à une classe d'anticorps ne peut pas être utilisé pour déterminer si une infection est active ou au stade de la maladie.
- 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.
- Des résultats positifs pour des patients ayant reçu des produits sanguins durant les six mois précédant le test peuvent être dus à des niveaux d'anticorps transitoires acquis durant la transfusion.
- L'utilisation pour tester du sang ombilical, des nouveau-nés et des patients en période prégreffe n'a pas été établie.

RÉSULTATS ATTENDUS

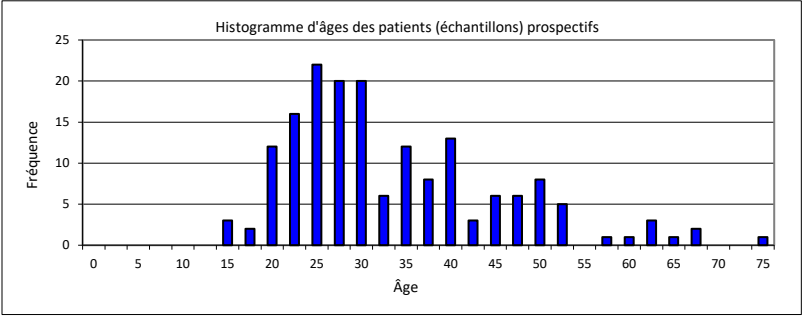
L'étude clinique de ces analytes a été réalisée avec un total de 177 échantillons prospectivement prélevés. Ces échantillons ont été testés dans le laboratoire central d'un hôpital du sud-est des États-Unis et dans un laboratoire de référence situé dans le Midwest. L'âge et le sexe du patient étaient connus pour 171 des 177 échantillons prospectifs. Les résultats **AtheNA Multi-Lyte** de ces 171 échantillons classés par groupe d'âge et de genre sont résumés dans le tableau suivant :

Âge	Sexe	Analyte AtheNA Multi-Lyte Plus rougeole				Analyte AtheNA Multi-Lyte Plus oreillons				Analyte AtheNA Multi-Lyte Plus varicelle-zona			
		Positif	Négatif	Ambivalent	Invalide	Positif	Négatif	Ambivalent	Invalide	Positif	Négatif	Ambivalent	Invalide
1 - 9	Hommes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Femmes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10 - 19	Hommes	5	0	0	0	6	1	0	0	2	4	0	0
	Femmes	5	1	1	0	4	0	1	0	3	3	0	0
20 - 29	Hommes	17	2	2	0	15	0	3	1	18	0	1	1
	Femmes	36	13	6	1	45	10	3	0	45	11	2	0
30 - 39	Hommes	1	1	2	0	3	0	1	0	4	0	0	0
	Femmes	22	10	3	0	23	12	1	0	31	4	1	0
40 - 49	Hommes	1	3	0	0	1	0	1	0	4	0	0	0
	Femmes	18	0	2	0	21	2	0	0	20	0	0	0
50 - 59	Hommes	4	0	0	0	2	0	0	0	3	1	0	0
	Femmes	4	2	0	0	7	0	1	0	5	1	0	0
60 - 69	Hommes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Femmes	6	0	0	0	6	0	0	0	4	1	1	0
70+	Hommes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Femmes	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Total	Hommes	28	6	4	0	27	1	5	1	31	5	1	1
	Femmes	94	26	12	1	107	24	6	0	109	20	4	0
	Total	171	32	16	1	134	25	11	1	140	25	5	1

Des 177 échantillons d'origine, à l'exception de quatre échantillons sans données d'âge et de deux échantillons sans données de genre, tous les échantillons prospectifs (n=171) ont été reçus avec des données d'âge et de genre des personnes les ayant fournis. Un résumé de ces informations démographiques est présenté dans le tableau ci-dessous.

Statistique	Femmes	Hommes	Population totale
Taille de l'échantillon	133	38	171
Âge moyen	33,4	29,3	32,5
Âge médian	30	26,5	28
Âge minimal	15	14	14
Âge maximal	73	52	73

L'histogramme ci-dessous indique la fréquence des âges pour les 171 échantillons accompagnés de cette information.



CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

1. Analyte de la rougeole

- a. Une étude comparative a été réalisée avec un total 253 échantillons testés. Parmi les 253 échantillons testés, 177 étaient des échantillons prospectifs et 76 étaient des échantillons rétrospectifs. Les échantillons prospectifs ont été testés dans le laboratoire central d'un hôpital du sud-est des États-Unis et dans un laboratoire de référence situé dans le Midwest. Les 76 échantillons rétrospectifs provenaient de 76 femmes enceintes âgées de 18 à 41 ans. De ces 76 femmes enceintes, 16 étaient dans leur premier trimestre de grossesse, 30 dans leur deuxième trimestre et 30 dans leur troisième trimestre. Les échantillons ont été testés avec le système de test **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus et avec le système de test ZEUS ELISA IgG anti-rougeole. Les résultats de cette étude comparative sont résumés dans les tableaux 1 à 5.

Tableau 1 : Échantillons prospectifs du site 1

		Système de test ZEUS ELISA IgG anti-rougeole			
		Positif	Négatif	Ambivalent	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	80	0	0	80
	Négatif	2	0	0	2
	Ambivalent	5	0	0	5
	Invalide	0	0	0	0
	Total	87	0	0	87
Concordance positive = 80/82 = 95,3 %		Intervalle de confiance à 95 % = 90,9 % à 99,8 %			
Concordance négative = 0/0 = N.D.		Intervalle de confiance à 95 % - N.D.			
Concordance globale = 80/87 = 92,0 %		Intervalle de confiance à 95 % = 86,2 % à 97,7 %			

Tableau 2 : Échantillons prospectifs du site 2

Tableau 2 : Échantillons prospectifs du site 2		Système de test ZEUS ELISA IgG anti-rougeole			
		Positif	Négatif	Ambivalent*	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	48	0	0	48
	Négatif	12	17	4	33
	Ambivalent*	4	2	2	8
	Invalide**	1	0	0	1
	Total	65	19	6	90
Concordance positive = 48/82 = 75,0 %			Intervalle de confiance à 95 % = 64,4 % à 85,6 %		
Concordance négative = 17/19 = 89,5 %			Intervalle de confiance à 95 % = 75,7 % à 103,3 %		
Concordance globale = 65/89 = 73,0 %			Intervalle de confiance à 95 % = 63,8 % à 82,3 %		
*Les échantillons AtheNA et ELISA ayant produit un résultat ambivalent sont considérés comme « non concordants ».					
**Les échantillons ayant produit un résultat invalide ont été exclus des calculs de concordance.					

Tableau 3 : Échantillons prospectifs, sites combinés

Tableau 3 : Échantillons prospectifs, sites combinés		Système de test ZEUS ELISA IgG anti-rougeole			
		Positif	Négatif	Ambivalent*	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	128	0	0	128
	Négatif	14	17	4	35
	Ambivalent*	9	2	2	13
	Invalide**	1	0	0	1
	Total	152	19	6	177
Concordance positive = 128/155 = 82,6 %			Intervalle de confiance à 95 % = 76,6 % à 88,6 %		
Concordance négative = 17/19 = 89,5 %			Intervalle de confiance à 95 % = 75,7 % à 103,3 %		
Concordance globale = 145/176 = 82,4 %			Intervalle de confiance à 95 % = 76,8 % à 88,0 %		
*Les échantillons AtheNA et ELISA ayant produit un résultat ambivalent sont considérés comme « non concordants ».					
**Les échantillons ayant produit un résultat invalide ont été exclus des calculs de concordance.					

Tableau 4 : Échantillons rétrospectifs

		Système de test ZEUS ELISA IgG anti-rougeole			
		Positif	Négatif	Ambivalent	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	71	0	0	71
	Négatif	4	1	0	5
	Ambivalent	0	0	0	0
	Invalide	0	0	0	0
	Total	75	1	0	76
Concordance positive = 71/75 = 94,7 %		Intervalle de confiance à 95 % = 89,6 % à 99,8 %			
Concordance négative = 1/1 = 100,0 %		Intervalle de confiance à 95 % = 75,7 % à 103,3 %			
Concordance globale = 72/76 = 94,7 %		Intervalle de confiance à 95 % = 89,7 % à 99,8 %			

Tableau 5 : Tous les échantillons combinés		Système de test ZEUS ELISA IgG anti-rougeole			
		Positif	Négatif	Ambivalent*	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	199	0	0	199
	Négatif	18	18	4	40
	Ambivalent*	9	2	2	13
	Invalide**	1	0	0	1
	Total	227	20	6	253
Concordance positive = 199/227 = 87,7 %			Intervalle de confiance à 95 % = 83,4 % à 91,9 %		
Concordance négative = 18/20 = 90,0 %			Intervalle de confiance à 95 % = 76,9 % à 103,1 %		
Concordance globale = 217/252 = 86,1 %			Intervalle de confiance à 95 % = 81,8 % à 90,4 %		
*Les échantillons AtheNA et ELISA ayant produit un résultat ambivalent sont considérés comme « non concordants ».					
**Les échantillons ayant produit un résultat invalide ont été exclus des calculs de concordance.					

- b. La **précision et la reproductibilité** du test ont été évaluées sur plusieurs sites comme suit : six échantillons ont été identifiés afin d'être utilisés pour l'étude sur la base de leur activité avec le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus. Deux échantillons clairement négatifs, deux échantillons clairement positifs et deux échantillons proches de la valeur seuil ont été sélectionnés. Ces six échantillons de sérum ont été divisés en trois aliquotes chacun et testés sur trois sites cliniques. Chaque jour, chaque échantillon était dilué deux fois puis chaque dilution était copiée quatre fois, ce qui a donné un total de huit résultats par essai. Ce protocole a été suivi pendant trois jours dans chaque établissement. Les résultats de l'étude de précision sont résumés dans le tableau 6.

Tableau 6 : Précision pour rougeole

Échant.		Intra-essai									Inter-essai			Entre les sites
		Site 1			Site 2			Site 3			Site 1	Site 2	Site 3	
1	Moyenne	324,5	319,5	311,5	343,8	356,8	323,3	359,3	351,1	352,0	318,5	341,3	354,1	338
	ET	29,7	12,0	16,4	19,8	20,5	19,1	14,8	23,0	16,4	20,6	23,6	18,0	25,4
	CV (%)	9,2	3,7	5,3	5,8	5,8	5,9	4,1	6,5	4,7	6,5	6,9	5,1	7,5
2	Moyenne	153,1	152,5	144,0	167,8	154,4	141,9	186,1	185,4	177,0	149,9	154,7	182,8	162,5
	ET	5,6	14,7	10,7	8,5	4,8	9,9	15,9	15,5	9,8	11,3	13,2	14,1	19,4
	CV (%)	3,6	9,7	7,5	5,1	3,1	7,0	8,6	8,4	5,6	7,6	8,6	7,7	11,9
3	Moyenne	479,1	472,5	464,0	481,0	492,3	468,4	538,5	541,4	530,3	471,9	48,5	536,7	496,4
	ET	26,0	23,7	25,2	92,2	29,6	17,2	44,3	54,8	33,2	24,7	55,2	43,2	51,3
	CV (%)	5,4	5,0	5,4	19,2	6,0	3,7	8,2	10,1	6,3	5,2	11,5	8,1	10,3
4	Moyenne	59,0	51,3	47,9	53,9	61,1	41,3	77,3	77,8	76,1	52,7	52,1	77,0	60,6
	ET	6,4	4,5	4,7	6,0	3,9	7,0	4,2	6,0	3,8	6,9	10,1	4,6	13,9
	CV (%)	10,8	8,7	9,8	11,1	6,5	17,1	5,4	7,7	5,0	13,1	19,3	6,0	22,9
5	Moyenne	29,6	20,4	22,8	29,6	38,0	20,1	57,8	48,3	50,4	24,3	29,3	52,1	35,2
	ET	7,5	4,5	6,4	7,5	6,6	6,4	19,1	5,0	4,3	7,2	9,9	11,9	15,6
	CV (%)	25,4	22,3	28,1	25,3	17,3	32,0	33,0	10,4	8,5	29,7	33,9	22,8	44,4
6	Moyenne	141,8	126,9	121,0	138,8	149,4	135,8	172,1	169,8	172,6	129,9	141,3	171,5	147,6
	ET	6,5	46,8	9,5	10,2	10,3	16,2	6,5	11,4	8,8	28,0	13,4	8,8	25,5
	CV (%)	4,6	36,9	7,8	7,3	6,9	12,0	3,8	6,7	5,1	21,6	9,5	5,1	17,3

- c. Une procédure de **réactivité croisée** a été réalisée avec sept échantillons de sérum ayant produit un résultat négatif avec le test ZEUS AtheNA Multi-Lyte® MMV IgG Plus, lesquels ont ensuite été contrôlés avec des tests ELISA de détection d'antigènes HSV-1, HSV-2, Toxo, CMV, EBNA, EBV-EA et EBV-VCA. Cinq des sept échantillons ont produit un résultat positif pour au moins un des marqueurs viraux utilisés. Les résultats de cette étude sont résumés dans le tableau 7.

Tableau 7 : Réactivité croisée, rougeole

Échant.	Résultats AtheNA	Résultats ELISA						
	Multi-Lyte	CMV	HSV-1	HSV-2	Toxoplasme	EBNA	EBV-EA	EBV
CN 18	45	0,10	5,46	1,22	0,01	6,44	0,18	5,89
CN 126	96	1,83	0,38	0,21	0,03	0,08	0,63	2,15
CN 140	50	1,88	1,06	0,16	0,00	3,14	0,20	0,82
CN 141	81	2,41	3,08	0,62	0,05	5,46	0,24	2,97
CN 144	70	1,75	0,87	0,14	0,02	2,00	0,21	0,92
CN 146	42	1,92	1,31	0,36	0,05	3,83	0,84	1,42
CN 149	25	1,52	0,38	0,22	0,04	6,58	0,39	1,33

- d. Une étude de **substances interférentes** a été menée afin de déterminer les effets potentiels des substances interférentes pouvant être retrouvées dans des échantillons de sérum. Les substances potentiellement interférentes ci-dessous ont présenté des pics dans les échantillons de sérum aux niveaux indiqués dans le tableau 8.

Tableau 8 : Niveaux de substances interférentes, rougeole

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	180 g/dl	360 g/dl
Intralipides	3,5 mg/ml	7,0 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 ont été évalués en présence de chacune des substances ci-dessus. Un échantillon a produit un résultat clairement positif pour les IgG anti-rougeole, le deuxième a produit un résultat près de la valeur seuil et le troisième était clairement négatif pour les IgG. Les résultats des échantillons de contrôle et les sérums des pics inférieur et supérieur sont présentés dans le tableau 9 ci-dessous.

Tableau 9 : Résultats de substances interférentes, rougeole

Substance interférente	Niveau de pic	Échantillon 1		Échantillon 2		Échantillon 3	
		Positif à la rougeole	% de récup. de signal positif	Ambivalent à la rougeole	% de récup. de signal positif	Négatif à la rougeole	% de récup. de signal positif
Aucune (contrôle)	N.D.	382	N.D.	102	N.D.	24	N.D.
Bilirubine	Inférieur	426	111,5	130	127,5	25	104,2
Bilirubine	Supérieur	415	108,6	109	106,9	22	91,7
Albumine	Inférieur	453	118,6	100	98,0	26	108,3
Albumine	Supérieur	440	115,2	103	101,0	24	100,0
IgG	Inférieur	477	124,9	297	291,2	328	1366,7
IgG	Supérieur	545	142,7	359	352,0	365	1520,8
Cholestérol	Inférieur	424	111,0	107	104,9	22	91,7
Cholestérol	Supérieur	414	108,4	115	112,7	27	112,5
Triglycérides	Inférieur	403	105,5	112	109,8	23	95,8
Triglycérides	Supérieur	388	101,6	110	107,8	28	116,7
Hémoglobine	Inférieur	388	101,6	102	100,0	27	112,5
Hémoglobine	Supérieur	372	97,4	95	93,1	16	66,7
Intralipides	Inférieur	389	101,8	121	118,6	29	120,8
Intralipides	Supérieur	616	161,3	106	103,9	25	104,2

L'échantillon positif a montré un pourcentage de récupération passant de 161,3 % pour le pic supérieur d'intralipides à 97,4 % pour le pic supérieur d'hémoglobines. L'ajout d'IgG purifiées a provoqué une forte augmentation du signal car il est probable que les IgG humaines purifiées utilisées pour étudier l'échantillon en solution étaient positives aux anticorps IgG anti-rougeole. Dans tous les cas, les résultats qualitatifs de l'échantillon positif restent inchangés. L'échantillon négatif a montré un pourcentage de récupération passant de 1 520,8 % pour le pic supérieur d'IgG à 66,7 % pour le pic supérieur d'hémoglobines. À l'exception de l'étude en solution des IgG humaines purifiées, les résultats qualitatifs de l'échantillon n'ont pas été altérés par ces substances. Enfin, l'échantillon ambivalent a montré un pourcentage de récupération passant de 352 % pour le pic supérieur d'IgG humaines purifiées à 93,1 % pour le pic supérieur d'hémoglobines. Il est possible de conclure que toutes les substances testées ont montré un certain niveau d'interférence avec la détection des anticorps spécifiques de la rougeole avec le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus en fonction du type de substance interférente et du niveau testé (voir plus haut). Les échantillons hémolytiques, icteriques, lipémiques ou qui contiennent des niveaux élevés d'anticorps IgG ne doivent pas être testés avec le système ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus.

2. Analyse d'oreillons

- a. **Une étude comparative** a été réalisée avec un total 253 échantillons testés. Parmi les 253 échantillons testés, 177 étaient des échantillons prospectifs et 76 étaient des échantillons rétrospectifs. Les échantillons prospectifs ont été testés dans le laboratoire central d'un hôpital du sud-est des États-Unis et dans un laboratoire de référence situé dans le Midwest. La section traitant des résultats attendus présente la distribution des données démographiques de ces échantillons. Les 76 échantillons rétrospectifs provenaient de 76 femmes enceintes âgées de 18 à 41 ans. De ces 76 femmes enceintes, 16 étaient dans leur premier trimestre de grossesse, 30 dans leur deuxième trimestre et 30 dans leur troisième trimestre. Les échantillons ont été testés avec le système ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus et avec un autre système de dépistage d'IgG anti-oreillons (système ZEUS ELISA Mumps IgG ou système Bion Mumps IgG IFA). Les résultats de cette étude comparative sont résumés dans les tableaux 10 à 14.

Tableau 10 : Échantillons prospectifs du site 1

Tableau 10 : Échantillons prospectifs du site 1		Résultats du test ZEUS ELISA IgG anti-oreillons			
		Positif	Négatif	Ambivalent*	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	84	0	0	84
	Négatif	0	0	0	0
	Ambivalent*	3	0	0	3
	Invalide	0	0	0	0
	Total	87	0	0	87
Concordance positive = 84/87 = 96,6 %			Intervalle de confiance à 95 % = 92,7 % à 100,4 %		
Concordance négative = 0/0 = N.D.			Intervalle de confiance à 95 % - N.D.		
Concordance globale = 84/87 = 96,6 %			Intervalle de confiance à 95 % = 92,7 % à 100,4 %		
*Les échantillons AtheNA ayant produit un résultat ambivalent sont considérés comme « non concordants ».					

Tableau 11 : Échantillons prospectifs du site 2

Tableau 11 : Échantillons prospectifs du site 2		Résultats du système Bion Mumps IgG IFA			
		Positif	Négatif	Ambivalent*	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	58	0	0	58
	Négatif	15	9	0	24
	Ambivalent*	9	0	0	9
	Invalide**	0	1	0	1
	Total	82	10	0	92
Concordance positive = 58/82 = 70,7 %			Intervalle de confiance à 95 % = 60,9 % à 80,6 %		
Concordance négative = 9/9 = 100,0 %			Intervalle de confiance à 95 % = 100,0 % à 100,0 %		
Concordance globale = 67/91 = 73,6 %			Intervalle de confiance à 95 % = 64,6 % à 82,7 %		
*Les échantillons AtheNA ayant produit un résultat ambivalent sont considérés comme « non concordants ».					
**Les échantillons ayant produit un résultat invalide ont été exclus des calculs de concordance.					

Tableau 12 : Échantillons prospectifs, sites combinés

Tableau 12 : Échantillons prospectifs, sites combinés		Résultats des tests de référence			
		Positif	Négatif	Ambivalent*	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	140	0	0	140
	Négatif	15	9	0	24
	Ambivalent*	12	0	0	12
	Invalide**	0	1	0	1
	Total	167	10	0	177
Concordance positive = 140/167 = 83,8 %			Intervalle de confiance à 95 % = 78,2 % à 89,4 %		
Concordance négative = 9/9 = 100,0 %			Intervalle de confiance à 95 % = 100,0 % à 100,0 %		
Concordance globale = 149/176 = 84,7 %			Intervalle de confiance à 95 % = 79,3 % à 90,0 %		
*Les échantillons AtheNA ayant produit un résultat ambivalent sont considérés comme « non concordants ».					
**Les échantillons ayant produit un résultat invalide ont été exclus des calculs de concordance.					

Tableau 13 : Échantillons rétrospectifs		Résultats du système Bion Mumps IgG IFA			
		Positif	Négatif	Ambivalent	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	60	1	0	71
	Négatif	0	12	0	5
	Ambivalent	0	2	1	0
	Invalide	0	0	0	0
	Total	60	15	0	76
Concordance positive = 60/76 = 78,9 %			Intervalle de confiance à 95 % = 69,8 % à 88,1 %		
Concordance négative = 12/15 = 80,0 %			Intervalle de confiance à 95 % = 59,8 % à 100,2 %		
Concordance globale = 72/76 = 94,7 %			Intervalle de confiance à 95 % = 89,7 % à 99,8 %		
*Les échantillons AtheNA et IFA ayant produit un résultat ambivalent sont considérés comme « non concordants ».					

Tableau 14 : Tous les échantillons combinés		Résultats des tests de référence			
		Positif	Négatif	Ambivalent*	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	200	1	0	201
	Négatif	15	21	0	36
	Ambivalent*	12	2	1	15
	Invalide**	0	1	0	1
	Total	227	25	1	253
Concordance positive = 200/227 = 88,1 %			Intervalle de confiance à 95 % = 83,9 % à 92,3 %		
Concordance négative = 21/24 = 87,5 %			Intervalle de confiance à 95 % = 74,3 % à 100,7 %		
Concordance globale = 221/252 = 87,7 %			Intervalle de confiance à 95 % = 83,8 % à 91,8 %		
*Les échantillons AtheNA, ELISA et IFA ayant produit un résultat ambivalent sont considérés comme « non concordants ».					
**Les échantillons ayant produit un résultat invalide ont été exclus des calculs de concordance.					

- b. **Une étude de précision** a été réalisée sur plusieurs sites comme suit : six échantillons ont été identifiés afin d'être utilisés pour l'étude sur la base de leur activité avec le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus. Deux échantillons clairement négatifs, deux échantillons clairement positifs et deux échantillons proches de la valeur seuil ont été sélectionnés. Ces six échantillons de sérum ont été divisés en trois aliquotes chacun et testés sur trois sites cliniques. Chaque jour, chaque échantillon était dilué deux fois puis chaque dilution était copiée quatre fois, ce qui a donné un total de huit résultats par essai. Ce protocole a été suivi pendant trois jours dans chaque établissement. Les résultats de l'étude de précision sont résumés ci-dessous dans le tableau 15.

Tableau 15 : Précision du test d'oreillons

		Intra-essai									Inter-essai			Entre les sites
		Site 1			Site 2			Site 3			Site 1	Site 2	Site 3	
Échant.		Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 1	Jour 2	Jour 3				
1	Moyenne	287,4	233,1	253,6	258,4	280,5	259,5	287,4	277,8	282,1	258,0	266,1	282,4	268,9
	ET	14,3	12,0	12,9	15,0	19,5	14,1	14,3	20,8	13,6	26,1	18,8	16,3	22,9
	CV (%)	5,0	5,1	5,1	5,8	7,0	5,4	5,0	7,5	4,8	10,1	7,1	5,8	8,5
2	Moyenne	361,4	314,8	315,9	351,6	336,0	305,1	361,4	373,1	357,5	330,7	330,9	364,0	341,9
	ET	11,7	16,1	23,8	11,1	18,1	21,6	11,7	22,9	10,8	28,0	25,9	16,8	38,5
	CV (%)	3,2	5,1	7,5	3,2	5,4	7,1	3,2	6,1	3,0	8,5	7,8	4,6	8,3
3	Moyenne	55,9	33,8	34,3	39,5	41,3	32,4	55,9	53,0	57,3	41,3	37,7	55,4	44,8
	ET	5,1	2,3	2,8	3,0	4,8	7,9	5,1	3,4	3,5	11,1	6,6	4,3	10,9
	CV (%)	9,1	6,9	8,1	7,7	11,6	24,4	9,1	6,4	6,1	26,8	17,6	7,8	24,4
4	Moyenne	64,9	30,9	40,4	40,8	46,0	35,1	64,9	60,0	63,4	45,4	40,6	62,8	49,6
	ET	3,6	6,6	6,7	3,0	4,7	2,4	3,6	6,1	3,6	15,6	5,6	4,9	13,7
	CV (%)	5,6	21,2	16,6	7,4	10,3	6,9	5,6	10,2	5,7	34,5	13,9	7,8	27,7
5	Moyenne	183,4	151,6	138,0	143,8	163,3	150,6	183,4	179,6	184,1	157,7	152,5	182,4	164,2
	ET	8,6	9,5	8,3	15,9	8,6	14,8	8,6	7,9	5,1	21,2	15,3	7,3	20,3
	CV (%)	4,7	6,2	6,1	11,0	5,3	9,8	4,7	4,4	2,7	13,4	10,0	4,0	12,3
6	Moyenne	128,5	94,3	88,1	116,9	117,1	92,3	128,5	125,6	138,3	103,6	108,8	130,8	114,4
	ET	5,9	8,0	15,9	6,5	3,9	8,5	5,9	13,3	9,9	20,9	13,5	11,2	19,5
	CV (%)	4,6	8,5	18,0	5,6	3,3	9,2	4,6	10,6	7,2	20,1	12,4	8,5	17,1

- c. Une procédure de **réactivité croisée** a été réalisée avec 10 échantillons de sérum ayant produit un résultat négatif avec le test ZEUS AtheNA Multi-Lyte® MMV IgG Plus, lesquels ont ensuite été contrôlés avec des tests ELISA de détection d'anticorps IgG contre HSV-1, HSV-2, CMV, EBNA, EBV-EA, EBV-VCA et toxoplasme. Neuf des dix échantillons ont produit un résultat positif pour au moins un des marqueurs viraux utilisés. Les résultats de cette étude sont résumés ci-dessous dans le tableau 16.

Tableau 16 : Réactivité croisée, oreillons

Échant.	Résultats AtheNA Multi-Lyte	Résultats ELISA					
		CMV	HSV-1	HSV-2	EBNA	EBV-EA	EBV
CN 18	27	0,10	5,46	1,22	6,44	0,18	5,89
CN 35	70	7,96	6,96	4,69	8,75	0,50	4,79
CN 70	77	0,28	7,45	2,42	8,25	0,25	4,78
CN 77	37	2,82	5,26	2,94	1,95	0,24	3,82
CN 122	54	1,30	0,25	0,13	0,00	0,72	0,70
CN 140	27	1,88	1,06	0,16	3,14	0,20	0,82
CN 141	93	2,41	3,08	0,62	5,46	0,24	2,97
CN 144	35	1,75	0,87	0,14	2,00	0,21	0,92
CN 146	31	1,92	1,31	0,36	3,83	0,84	1,42
CN 149	77	1,52	0,38	0,22	6,58	0,39	1,33

- d. Une étude de **substances interférentes** a été menée afin de déterminer les effets potentiels des substances interférentes pouvant être retrouvées dans des échantillons de sérum. Les substances interférentes potentielles suivantes ont présenté des pics dans les échantillons de sérum aux niveaux indiqués :

Tableau 17 : Niveaux de substances interférentes, oreillons

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	180 g/dl	360 g/dl
Intralipides	3,5 mg/ml	7,0 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 ont été évalués en présence de chacune des substances ci-dessus. Un échantillon a produit un résultat clairement positif pour les IgG anti-oreillons, le deuxième a produit un résultat près de la valeur seuil et le troisième était clairement négatif pour les IgG anti-oreillons. Les résultats des échantillons de contrôle et les sérums des pics inférieur et supérieur sont présentés dans le tableau 18 ci-dessous.

Tableau 18 : Substance interférente, oreillons

Substance interférente	Niveau de pic	Échantillon 1		Échantillon 2		Échantillon 3	
		Positif aux oreillons	% de récup. de signal positif	Ambivalent aux oreillons	% de récup. de signal positif	Négatif aux oreillons	% de récup. de signal positif
Aucune (contrôle)	N.D.	245	N.D.	89	N.D.	60	N.D.
Bilirubine	Inférieur	276	112,7	123	138,2	59	98,3
Bilirubine	Supérieur	253	103,3	94	105,6	60	100,0
Albumine	Inférieur	261	106,5	97	109,0	61	101,7
Albumine	Supérieur	249	101,6	89	100,0	55	91,7
IgG	Inférieur	376	153,5	379	425,8	367	611,7
IgG	Supérieur	415	169,4	388	436,0	437	728,3
Cholestérol	Inférieur	264	107,8	97	109,0	63	105,0
Cholestérol	Supérieur	2268	109,4	103	115,7	68	113,3
Triglycérides	Inférieur	253	103,3	102	114,6	58	96,7
Triglycérides	Supérieur	248	101,2	94	105,6	60	100,0
Hémoglobine	Inférieur	231	94,3	99	111,2	60	100,0
Hémoglobine	Supérieur	229	93,5	95	106,7	52	86,7
Intralipides	Inférieur	250	102,0	103	115,7	68	113,3
Intralipides	Supérieur	379	154,7	103	115,7	59	98,3

L'échantillon positif a montré un pourcentage de récupération passant de 169,4 % pour le pic supérieur d'IgG à 93,5 % pour le pic supérieur d'hémoglobines. L'ajout d'IgG purifiées a provoqué une forte augmentation du signal car il est probable que les IgG humaines purifiées utilisées pour étudier l'échantillon en solution étaient positives aux anticorps IgG anti-oreillons. Dans tous les cas, les résultats qualitatifs de l'échantillon positif restent inchangés. L'échantillon négatif a montré un pourcentage de récupération passant de 728,3 % pour le pic supérieur d'IgG à 91,7 % pour le pic supérieur d'albumine. À l'exception de l'étude en solution des IgG humaines purifiées, les résultats qualitatifs de l'échantillon n'ont pas été altérés par ces substances. Enfin, l'échantillon ambivalent a montré un pourcentage de récupération passant de 436 % pour le pic supérieur d'IgG humaines purifiées à 100 % pour le pic supérieur d'albumine. Il est possible de conclure que toutes les substances testées ont montré un certain niveau d'interférence avec la détection des anticorps spécifiques des oreillons avec le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus en fonction du type de substance interférente et du niveau testé (voir plus haut). Les échantillons hémolytiques, ictériques, lipémiques ou qui contiennent des niveaux élevés d'anticorps IgG ne doivent pas être testés avec le système ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus.

3. Analyte de varicelle-zona (VZ)

- a. Une étude comparative a été réalisée avec un total 272 échantillons testés. Parmi les 272 échantillons testés, 177 étaient des échantillons prospectifs et 95 étaient des échantillons rétrospectifs. Les échantillons prospectifs ont été testés dans le laboratoire central d'un hôpital du sud-est des États-Unis et dans un laboratoire de référence situé dans le Midwest. La section traitant des résultats attendus présente la distribution des données démographiques de ces échantillons. Les 95 échantillons rétrospectifs provenaient de 19 enfants de 1 à 12 ans et de 76 femmes enceintes âgées de 18 à 41 ans. De ces 76 femmes enceintes, 16 étaient dans leur premier trimestre de grossesse, 30 dans leur deuxième trimestre et 30 dans leur troisième trimestre. Les échantillons ont été testés avec le système de test **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus et avec le système de test ZEUS ELISA IgG anti-VZ. Les résultats de cette étude comparative sont résumés dans les tableaux 19 à 22.

Tableau 19 : Échantillons prospectifs du site 1

Tableau 19 : Échantillons prospectifs du site 1		Résultats du test ZEUS ELISA IgG anti-VZ			
		Positif	Négatif	Ambivalent*	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	83	0	0	83
	Négatif	1	0	0	1
	Ambivalent*	3	0	0	3
	Invalide	0	0	0	0
	Total	87	0	0	87
Concordance positive = 83/87 = 95,4 %			Intervalle de confiance à 95 % = 88,6 % à 98,7 %		
Concordance négative = 0/0 = N.D.			Intervalle de confiance à 95 % - N.D.		
Concordance globale = 83/87 = 95,4 %			Intervalle de confiance à 95 % = 88,6 % à 98,7 %		
*Les échantillons AtheNA ayant produit un résultat ambivalent sont considérés comme « non concordants ».					

Tableau 20 : Échantillons prospectifs du site 2

Tableau 20 : Échantillons prospectifs du site 2		Résultats du test ZEUS ELISA IgG anti-VZ			
		Positif	Négatif	Ambivalent*	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	61	0	2	63
	Négatif	5	16	3	24
	Ambivalent*	2	0	0	2
	Invalide**	0	1	0	1
	Total	68	17	5	90
Concordance positive = 61/71 = 85,9 %			Intervalle de confiance à 95 % = 75,6 % à 93,0 %		
Concordance négative = 16/18 = 88,9 %			Intervalle de confiance à 95 % = 65,3 % à 98,6 %		
Concordance globale = 77/89 = 86,5 %			Intervalle de confiance à 95 % = 77,6 % à 92,8 %		
*Les échantillons AtheNA et ELISA ayant produit un résultat ambivalent sont considérés comme « non concordants ».					
**Les échantillons ayant produit un résultat invalide ont été exclus des calculs de concordance.					

Tableau 21 : Échantillons prospectifs, sites combinés

Tableau 21 : Échantillons prospectifs, sites combinés		Résultats du test ZEUS ELISA IgG anti-VZ			
		Positif	Négatif	Ambivalent*	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	144	0	2	146
	Négatif	6	16	3	25
	Ambivalent*	5	0	0	5
	Invalide**	0	1	0	1
	Total	155	17	5	177
Concordance positive = 140/158 = 91,9%			Intervalle de confiance à 95 % = 85,6 % à 95,1 %		
Concordance négative = 16/18 = 88,9 %			Intervalle de confiance à 95 % = 65,3 % à 98,6 %		
Concordance globale = 160/176 = 90,9 %			Intervalle de confiance à 95 % = 85,7 % à 94,7 %		
*Les échantillons AtheNA et ELISA ayant produit un résultat ambivalent sont considérés comme « non concordants ».					
**Les échantillons ayant produit un résultat invalide ont été exclus des calculs de concordance.					

Tableau 22 : Échantillons rétrospectifs

Tableau 22 : Échantillons rétrospectifs		Résultats du test ZEUS ELISA IgG anti-VZ			
		Positif	Négatif	Ambivalent	Total
Système de test AtheNA Multi-Lyte MMV IgG Plus	Positif	72	0	0	72
	Négatif	5	12	2	19
	Ambivalent	3	0	0	3
	Invalide	1	0	0	1
	Total	81	12	2	95
Concordance positive = 72/80 = 90,0 %			Intervalle de confiance à 95 % = 83,4 % à 96,6 %		
Concordance négative = 12/12 = 100,0 %			Intervalle de confiance à 95 % = 73,5 % à 100,0 %		
Concordance globale = 84/94 = 89,4 %			Intervalle de confiance à 95 % = 81,3 % à 94,8 %		
*Les échantillons AtheNA et ELISA ayant produit un résultat ambivalent sont considérés comme « non concordants ».					
**Les échantillons ayant produit un résultat invalide ont été exclus des calculs de concordance.					

- b. **La précision du test** a été évaluée sur plusieurs sites comme suit : six échantillons ont été identifiés afin d'être utilisés pour l'étude sur la base de leur activité avec le test AtheNA. Deux échantillons clairement négatifs, deux échantillons clairement positifs et deux échantillons proches de la valeur seuil ont été sélectionnés. Ces six échantillons de sérum ont été divisés en trois aliquotes chacun et testés sur trois sites cliniques. Chaque jour, chaque échantillon était dilué deux fois puis chaque dilution était copiée quatre fois, ce qui a donné un total de huit résultats par essai. Ce protocole a été suivi pendant trois jours dans chaque établissement. Les résultats de l'étude de précision sont résumés ci-dessous dans le tableau 23.

Tableau 23 : Précision pour varicelle-zona

		Intra-essai									Inter-essai			Entre les sites
		Site 1			Site 2			Site 3			Site 1	Site 2	Site 3	
Échant.		Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 1	Jour 2	Jour 3				
1	Moyenne	318			311			334			318	311	334	321
	ET	15,48	16,69	24,48	17,20	16,53	13,29	16,81	23,42	10,94	27,75	20,22	17,57	23,96
	CV (%)	4,9	4,8	8,3	5,5	5,6	4,3	5,0	7,1	3,3	8,7	6,5	5,3	7,5
2	Moyenne	264			262			290			264	262	290	272
	ET	15,59	8,87	9,65	14,66	21,63	22,41	19,04	26,10	15,33	14,38	19,59	21,06	22,29
	CV (%)	5,9	3,2	3,8	5,5	8,3	8,7	6,5	8,8	5,5	5,4	7,5	7,3	8,2
3	Moyenne	25			25			35			25	25	35	28
	ET	1,64	2,07	2,98	3,11	2,56	2,43	1,41	2,07	1,93	3,14	3,06	1,85	5,53
	CV (%)	6,5	7,5	13,5	11,4	11,0	9,5	4,0	6,0	5,4	12,7	12,0	5,3	19,4
4	Moyenne	13			11			21			13	11	21	15
	ET	1,77	2,53	0,99	2,23	1,55	1,07	1,69	1,28	0,74	2,46	2,65	1,37	4,74
	CV (%)	14,3	17,0	9,1	15,8	17,0	9,7	7,8	6,3	3,6	19,3	23,2	6,6	31,6
5	Moyenne	105			102			101			105	102	101	103
	ET	5,36	2,88	12,98	4,29	4,53	4,61	2,83	8,27	8,55	10,41	7,95	6,93	8,60
	CV (%)	5,3	2,5	12,9	4,7	4,5	4,8	2,8	8,3	8,3	9,9	7,8	6,8	8,4
6	Moyenne	88			89			128			88	89	128	102
	ET	3,81	4,33	7,86	15,63	4,54	19,40	6,63	6,10	7,03	9,20	14,22	6,37	21,36
	CV (%)	4,3	4,5	10,00	17,3	5,3	21,5	5,2	4,7	5,6	10,5	16,0	5,0	21,0

- c. **Deux études séparées de réactivité croisée** ont été réalisées afin d'évaluer le potentiel de réactivité croisée avec d'autres virus. Dans le cadre de la première étude, 15 échantillons de sérum ayant produit un résultat négatif avec le système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus ont été sélectionnés, lesquels ont ensuite été testés avec des systèmes ELISA de dépistage de la rougeole, des oreillons et de rubéole vendus dans le commerce. Des 15 échantillons, deux ont produit un résultat négatif avec les trois tests ELISA, mais 13/15 ont produit un résultat positif de détection d'IgG contre au moins un des trois virus. Dans le cadre de la deuxième étude, les chercheurs ont sélectionné 16 échantillons de sérum ayant produit un résultat négatif avec un test AtheNA et un test ELISA de détection d'IgG anti-VZ. Ces échantillons ont ensuite fait l'objet de tests avec des systèmes ELISA vendus dans le commerce pour la détection d'anticorps IgG contre HSV-1, CMV, hépatite B, EBNA et EBV-VCA. Les 16 échantillons ont produit un résultat positif pour au moins un des marqueurs viraux utilisés. Les résultats de cette étude sont résumés ci-dessous dans les tableaux 24 et 25.

Tableau 24 : Première étude de réactivité croisée (varicelle-zona)

Échant.	Résultats AtheNA Multi-Lyte	Résultats ELISA		
		IgG anti-rougeole	IgG anti-oreillons	IgG anti-rubéole
1	Négatif	Positif	Positif	Positif
2	Négatif	Positif	Positif	Positif
3	Négatif	Positif	Positif	Positif
4	Négatif	Positif	Négatif	Négatif
5	Négatif	Positif	Positif	Positif
6	Négatif	Positif	Positif	Positif
7	Négatif	Positif	Positif	Positif
8	Négatif	Positif	Négatif	Positif
9	Négatif	Positif	Positif	Positif
10	Négatif	Positif	Positif	Positif
11	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
12	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
13	Négatif	Positif	Négatif	Négatif
14	Négatif	Négatif	Négatif	Positif
15	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

Tableau 25 : Deuxième étude de réactivité croisée (varicelle-zona)

Échant.	Résultats AtheNA Multi-Lyte	Résultats ELISA					
		EBNA	EBV-VCA	CMV	HSV-1	HSV-2	Hépatite Ab
1	Négatif	Non testé	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif
2	Négatif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
3	Négatif	Positif	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Négatif
4	Négatif	Non testé	Positif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
5	Négatif	Positif	Positif	Négatif	Positif	Ambivalent	Négatif
6	Négatif	Positif	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Négatif
7	Négatif	Négatif	Ambivalent	Positif	Positif	Positif	Négatif
8	Négatif	Positif	Positif	Négatif	Positif	Ambivalent	Négatif
9	Négatif	Positif	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Négatif
10	Négatif	Positif	Positif	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif
11	Négatif	Non testé	Positif	Positif	Ambivalent	Négatif	Négatif
12	Négatif	Non testé	Positif	Positif	Ambivalent	Négatif	Négatif
13	Négatif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif	Négatif
14	Négatif	Positif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Positif
15	Négatif	Positif	Positif	Positif	Négatif	Négatif	Négatif
16	Négatif	Positif	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Positif

- d. Une étude de **substances interférentes** a été menée afin de déterminer les effets potentiels des substances interférentes pouvant être retrouvées dans des échantillons de sérum. Le tableau 26 indique les niveaux de substances potentiellement interférentes présentant des pics dans les échantillons de sérum. 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.

Tableau 26 : Niveaux de substances interférentes, varicelle-zona

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	180 g/dl	360 g/dl
Intralipides	3,5 mg/ml	7,0 mg/ml

Pour cette étude, trois sérums ont été évalués en présence de chacune des substances ci-dessus. Un échantillon a produit un résultat clairement positif pour les IgG anti-VZ, le deuxième a produit un résultat près de la valeur seuil et le troisième était clairement négatif pour les IgG anti-VZ. Les résultats des échantillons de contrôle et les sérums des pics inférieur et supérieur sont présentés dans le tableau 27.

Tableau 27 : Substances interférentes (VZ)

Substance interférente	Niveau de pic	Échantillon 1		Échantillon 2		Échantillon 3	
		Positif pour IgG anti-VZV	% de récup. de signal positif	Ambivalent pour IgG anti-VZV	% de récup. de signal positif	Négatif pour IgG anti-VZV	% de récup. de signal positif
Aucune (contrôle)	N.D.	177	N.D.	114	N.D.	25	N.D.
Bilirubine	Inférieur	155	87,6	117	102,6	50	200,0
Bilirubine	Supérieur	127	71,8	95	83,3	48	192,0
Albumine	Inférieur	163	92,1	111	97,4	55	220,0
Albumine	Supérieur	126	71,2	1117	102,6	62	248,0
IgG	Inférieur	300	169,5	295	258,8	344	1376,0
IgG	Supérieur	446	252,0	313	274,6	452	1808,0
Cholestérol	Inférieur	147	83,1	113	99,1	58	232,0
Cholestérol	Supérieur	164	92,7	115	100,9	57	228,0
Triglycérides	Inférieur	137	77,4	99	86,8	52	208,0
Triglycérides	Supérieur	142	80,2	88	77,2	46	184,0
Hémoglobine	Inférieur	129	78,0	101	88,6	51	204,0
Hémoglobine	Supérieur	129	72,9	113	99,1	44	176,0
Intralipides	Inférieur	139	78,5	101	88,6	56	224,0
Intralipides	Supérieur	163	92,1	99	86,8	51	244,0

L'échantillon positif a montré un pourcentage de récupération passant de 252 % pour le pic supérieur d'IgG à 71,2 % pour le pic supérieur d'albumine. L'ajout d'IgG purifiées a provoqué une forte augmentation du signal car il est probable que les IgG humaines purifiées utilisées pour étudier l'échantillon en solution étaient positives aux anticorps IgG anti-VZ. Dans tous les cas, les résultats qualitatifs de l'échantillon positif restent inchangés. L'échantillon négatif a montré un pourcentage de récupération passant de 1 808 % pour le pic supérieur d'IgG à 176 % pour le pic supérieur d'hémoglobines. À l'exception de l'étude en solution des IgG humaines purifiées, les résultats qualitatifs de l'échantillon n'ont pas été altérés par ces substances. Enfin, l'échantillon ambivalent a montré un pourcentage de récupération passant de 274,5 % pour le pic supérieur d'IgG humaines purifiées à 83,3 % pour le pic supérieur de bilirubine. Il est possible de conclure que toutes les substances testées ont montré un certain niveau d'interférence avec la détection des anticorps contre varicelle-zona avec le tests AtheNA Plus en fonction du type de substance interférente et du niveau testé (voir plus haut). Les échantillons hémolytiques, ictériques, lipidiques ou qui contiennent des niveaux élevés d'anticorps IgG ne doivent pas être testés avec le système ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV IgG Plus.

RÉFÉRENCES

1. Norrby E, and Oxman MN: Measles Virus. In: Virology, Fields BN and Knope 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. Norrby, E.: Mumps Virus, in: Manual of Clinical Microbiology, 4th ed., Lennette, E.H., A Balows, WJ Hausler, Jr., HJ Shadomy (eds). American Society for Microbiology, Washington, D.C. Pp 774-778, 1985.
5. Kleiman, MB: Mumps Virus Infections in: Laboratory Diagnosis of Viral Infections, Lennette. EH (ed). Marcel Dekker, Inc. New York, NY. Pp 369-383, 1985.
6. Hopp, HE and Parkman, PD: Mumps Virus, in: Diagnostic Procedure for Viral, Rickettsial and chlamydial Infections, 5th Ed. Lennette EH and Schmidt NH (eds). American Public Health Association, Washington, D.C. Pp 633-653, 1979.
7. Weller TH, Witton HM, Bell EJ. Exp. Med. 108:843, 1958
8. Weller TH, Coons AH: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 86:789, 1954
9. Weller TH: Viral Infections of Human: Epidemiology and Control. 2nd ed. NY: Pelnum 569-95, 1982
10. Kimura A, et al: Arch virusforsch 36: 1, 1972
11. Esiri M, Tomlinson AH: J. Neurol. Sci. 15:25, 1972
12. Oakes JE, Iltis JP Hyman RW, et al: Virology, 82:353, 1977
13. Richards JC, Human RW, Rapp F: J. Virol. 32:812, 1979
14. Fleisher G, Henry W, McSorley M, Arbeter A, Plotkin S: Am. J. Dis. Child. 135:869-9, 1981.
15. Preblud SR: Pediatrics 68:14-7, 1981.
16. Ojeda VJ, et al: ASCP 529-532 (Vol 81, No.4), April 1984.
17. The Harvard Medical School Health Center, Vol IX. No.8 "Shingles". June, 1984.
18. Leclair JM, Zaia JA, Levin MJ: N. Engl. J. Med. 302:450, 1980.
19. Tyzzer EE: J. Med. Res. 14:361, 1960.
20. Stevens DA, Merigan TC: J. Infect. Dis. 509, 1975.
21. 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.
22. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration; Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed.Register 56:64175-64182, 1991.
23. Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids and Tissues; Approved Guideline. NCCLS Document M29, Vol.17(12), 1997.
24. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
25. Procedures for the collection and diagnostic blood specimens by venipuncture. 2nd edition. Approved Standard (1984). Published by National Committee for Clinical Laboratory Standards.
26. 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
 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
 Système de test ZEUS **AtheNA Multi-Lyte** MMV 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 Tous droits réservés.



(Document actualisé le 2025-05-07)