

VIROTECH EBV IgG LINE Immunoblot

(EBV IgG LINE-32)

Référence : WE102G32

(EBV IgG LINE-96)

Référence : WE102G96

VIROTECH EBV IgM LINE Immunoblot

(EBV IgM LINE-32)

Référence : WE102M32

(EBV IgM LINE-96)

Référence : WE102M96

POUR DIAGNOSTIC IN-VITRO UNIQUEMENT

**Virotech Diagnostics GmbH
Waldstrasse 23 A2
63128 Dietzenbach, Germany**

**Tel.: +49(0)6074-23698-0
Fax.: +49(0)6074-23698-900
www.goldstandarddiagnostics.com**



Sommaire

1. Usage prévu	3
2. Principe du test	3
3. Contenu	3
3.1 Kit pour 32 déterminations	3
3.2 Kit pour 96 déterminations	3
4. Stockage et conservation du kit et des réactifs	3
5. Mesures de précaution et mises en garde	4
6. Matériel et produits supplémentaires nécessaires (non livrés avec le produit)	4
7. Echantillons	5
8. Réalisation du test	5
8.1 Préparation des échantillons	5
8.2 Préparation des réactifs	5
8.3 Réalisation du test d'immunoempreinte	5
8.4 Utilisation de dispositifs de traitement automatisé des immunoempreintes	6
9. Interprétation du test	6
9.1 Interprétation des échantillons des patients	7
9.2 Utilisation du contrôle cut-off	7
9.3 Signification des antigènes	7
9.4 Critères d'interprétation	8
9.5 Limites du test	9
10. Bibliographie	9
11. Symboles	10
12. Schéma du déroulement du test	11

1. Usage prévu

LINE Immunoblot est destiné à la détection qualitative d'anticorps IgG ou IgM spécifiques du virus d'Epstein-Barr (EBV) dans le sérum humain. Il peut être utilisé dans un diagnostic élargi de l'EBV pour la différenciation ou la confirmation de la séronégativité, de la primo-infection et d'une infection passée.

2. Principe du test

Par un procédé spécial de pulvérisation, on transfère les protéines de l'antigène de l'agent pathogène sur une membrane en nitrocellulose. La membrane de nitrocellulose est ensuite coupée en bandelettes individuelles.

L'incubation des bandes de nitrocellulose qui contiennent des antigènes avec des échantillons de sérum/plasma humains permet la mise en évidence d'anticorps spécifiques présents. Ces anticorps forment un complexe immun avec les antigènes fixés sur les bandelettes de test. On élimine ensuite par lavage successifs les anticorps n'ayant pas réagi, puis on incube les différentes bandelettes de nitrocellulose avec un anticorps anti-immunoglobulines humaines conjugué à la phosphatase alcaline. On élimine ensuite par lavage les anticorps conjugués n'ayant pas réagi, puis on réalise la mise en évidence optique des complexes antigène/anticorps (des anticorps liés) en ajoutant un substrat incolore, lequel produit des bandes de couleur bleu-violet (« bandes antigéniques ») lors de sa conversion enzymatique. On arrête la réaction enzyme/substrat en lavant les bandelettes de nitrocellulose à l'aide d'eau distillée/désionisée. En fonction du modèle observé sur la bande, on peut conclure que l'on est en présence ou non d'anticorps IgG ou IgM.

3. Contenu

3.1 Kit pour 32 déterminations

1. Bandelettes de test en IgG ou IgM nitrocellulose , revêtues d'antigènes, renforcées par un film, ordonnées dans un carnet, prêtes à l'emploi	1 x	32 bandelettes
2. Contrôle cut-off des IgG ou des IgM , sérum humain, prédilué	1 x	1,0 ml
3. Tampon de dilution/lavage, pH 7,3 (concentr. 10x), avec conservateur et Tris	2x	50 ml
4. Conjugué IgG ou IgM (concentr. 100x) phosphatase alcaline (chèvre) anti-humaine, avec conservateur	1 x	0,7 ml
5. Substrat (BCIP/NBT), prêt à l'emploi	1 x	57 ml
6. Fiche-journal d'interprétation , pour la consignation et l'archivage des résultats.	1 x	1 unité

3.2 Kit pour 96 déterminations

1. Bandelettes de test en IgG ou IgM nitrocellulose , revêtues d'antigènes, renforcées par un film, ordonnées dans un carnet, prêtes à l'emploi	3 x	32 bandelettes
2. Contrôle cut-off des IgG ou des IgM , sérum humain, prédilué	2 x	1,0 ml
3. Tampon de dilution/lavage, pH 7,3 (concentr. 10x), avec conservateur et Tris	4x	50 ml
4. Conjugué IgG ou IgM (concentr. 100x) phosphatase alcaline (chèvre) anti-humaine, avec conservateur	3 x	0,7 ml
5. Substrat (BCIP/NBT), prêt à l'emploi	3 x	57 ml
6. Fiche-journal d'interprétation , pour la consignation et l'archivage des résultats.	3x	1 unité.

Disponible en supplément sur demande :

IgG ou IgM- Contrôle positif, sérum humain, prédilué, 0,5 ml.

Vous trouverez les bandes positives > bandes cut-off dans le certificat joint à la livraison.

(Réf. : IgG : WE102P60 ou IgM : WE102P80)

IgG/IgM- Contrôle négatif, sérum humain, prédilué, 0,5 ml.

Le contrôle négatif ne présente pas de bandes ou tout au moins pas de bandes \geq bandes cut-off pertinentes pour l'évaluation.

(Réf. : IgG/IgM : WE102N10)

4. Stockage et conservation du kit et des réactifs

Conserver le kit à une température comprise entre 2 et 8 °C. La durée de conservation des différents composants est indiquée sur leur étiquette ; la durée de conservation du kit est indiquée sur le certificat de contrôle-qualité.

1. Ne pas congeler les réactifs, ni les exposer à des températures élevées.
2. Ne pas utiliser les réactifs après l'expiration de la date de péremption.
3. Eviter de stocker les réactifs dans un lieu où ils sont soumis à une forte lumière.
4. Le substrat BCIP/ NBT en solution est photosensible et il doit être conservé à l'abri de toute lumière.
5. **Bandelettes de nitrocellulose** : utiliser les **bandelettes** immédiatement après les avoir sorties de leur sachet. Refermer hermétiquement le sachet contenant les **bandelettes** restantes et stocker celui-ci à une température comprise entre 2 et 8 °C. Pour archiver les résultats, il est impératif de tenir les **bandelettes** de test en nitrocellulose à l'abri de tout rayonnement direct du soleil afin éviter que les bandes ne se décolorent.

Matériel	Etat	Conservation	Date de péremption
Echantillons d'essai	Non dilué	+2 jusqu'à +8° C	1 semaine
Bandes de test	Après ouverture	+2 jusqu'à +8° C (conservation dans le sachet fourni)	3 mois
Contrôles	Après ouverture	+2 jusqu'à +8° C	3 mois
Conjugué	Après ouverture	+2 jusqu'à +8° C	3 mois
	Dilué	+2 jusqu'à +8° C	env. 6 h
Substrat	Après ouverture	+2 jusqu'à +8° C (protégé contre la lumière)	3 mois
Solution de lavage	Après ouverture	+2 jusqu'à +8° C (protégé contre la lumière)	3 mois
	Dilué final (prêt à l'emploi)	+2 jusqu'à +8° C	4 semaines
	Dilué final (prêt à l'emploi)	ou température ambiante	2 semaines

5. Mesures de précaution et mises en garde

1. Les sérums de contrôle utilisés ont réagi négativement aux tests de détection des anticorps du HIV1, du HIV2, de l'hépatite C ainsi que de l'antigène HBs. Toutefois, tous les sérums de contrôle, les échantillons, les échantillons dilués, les conjugués et les bandelettes de test en nitrocellulose doivent être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés comme tels. Les dispositions légales respectives en vigueur pour les laboratoires doivent être appliquées.
2. Lors de la réalisation de l'immunoempreinte, porter des gants à usage unique et utiliser une pincette en plastique.
3. Eliminer le matériel et les produits utilisés dans le respect des directives nationales en vigueur.
4. Les bacs d'incubation ont été conçus par le fabricant pour n'être utilisés qu'une seule fois. Le fabricant décline toute responsabilité s'ils sont utilisés plusieurs fois. Dans le cas d'une réutilisation éventuelle, il est recommandé de les désinfecter après utilisation en les laissant tremper plusieurs heures dans une solution d'eau de javel à 1 % (hypochlorite de sodium), de les nettoyer et de les rincer à fond à l'eau du robinet et à l'eau distillée/désionisée.

6. Matériel et produits supplémentaires nécessaires (non livrés avec le produit)

1. Bac d'incubation (peut être commandé en fonction des besoins ; référence du produit : WE300.08)
2. Agitateur (vertical non centrifuge)
3. Une pissette pour l'arrêt
4. Pipette ou dispositif de lavage des mains
5. Micropipettes de 5 µl à 1500 µl
6. Pointes de pipette
7. Tubes à échantillons de 2 à 20 ml
8. Pincette en plastique
9. Eau distillée ou désionisée
10. Papier filtre

7. Echantillons

Le sérum ou le plasma (en l'occurrence, le type d'anticoagulants n'est pas important) peut être utilisé comme matériel à analyser, même lorsque seul le sérum est mentionné dans la notice.

8. Réalisation du test

Le respect scrupuleux des consignes de travail de VIROTECH Diagnostics est une condition essentielle à l'obtention de résultats corrects.

8.1 Préparation des échantillons

1. 15 µl de sérum ou de plasma sont nécessités par échantillon de patient.
2. Les échantillons sanguins doivent être prélevés de manière aseptique par ponction veineuse. Il faut séparer le sérum après coagulation complète (ce qui n'est pas le cas pour le plasma). Lorsque les sérums doivent être conservés pendant une période prolongée, ceux-ci doivent être congelés à -20 °C.
3. Eviter de congeler et décongeler les sérums plusieurs fois.
4. Ne pas utiliser de sérums ayant été inactivés par la chaleur, ni de sérums hyperlipémiques, hémolytiques ou contaminés par des bactéries, car ils pourraient engendrer l'obtention de résultats faussés.
5. Ne pas utiliser les échantillons sériques opaques (surtout après la décongélation) ; le cas échéant, les centrifuger (5 minutes à 1 000 x g), pipeter le surnageant translucide et l'utiliser pour le test.

8.2 Préparation des réactifs

1. Afin de simplifier la routine des travaux de laboratoire, les mêmes temps d'incubation et les mêmes composantes (si les temps d'incubation et les composantes sont communs aux tests) peuvent être utilisés pour tous les LINEs et EcoBlots. L'utilisation des contrôles cut-off s'effectue de façon spécifique aux paramètres et au lot.
2. Avant la dilution de chacun des réactifs de test, amener le concentré correspondant à la température ambiante. Utiliser uniquement de l'eau distillée/désionisée de qualité élevée et à température ambiante.
3. Bien homogénéiser les dilutions avant de réaliser le test.
4. **Tampon de dilution et de lavage**
Diluer le tampon **de dilution et de lavage** concentré (10X) au 1/10 avec de l'eau distillée ou désionisée pour obtenir une solution de lavage 1X (10ml/50ml/100ml de tampon concentré + 90ml/450ml/900ml d'eau dist./désionisée) et bien mélanger.
Les tampons de dilution/de lavage concentrés et dilués sont susceptibles de présenter une coloration jaune. Celle-ci n'a aucune influence ni sur la durée de conservation du tampon de dilution/de lavage, ni sur le fonctionnement et la validité diagnostique du dosage.
5. **Conjugué IgG ou IgM**
Ajouter 1 volume de conjugué phosphatase alcaline IgG ou IgM (100x) dans 100 volumes de tampon de dilution et de lavage préparé 1X. 1,5 ml de solution de conjugué sont nécessaires pour chaque échantillon de sérum. Voir le tableau de dilution du conjugué (point « Schéma de déroulement du test »).
6. **Substrat en solution**
Le substrat est prêt à l'emploi.

8.3 Réalisation du test d'immunoempreinte

Attention : Les barrettes de test en nitrocellulose ne doivent être testées que dans la classe d'Ig spécifiée (voir l'étiquette apposée sur le carnet de l'immunoempreinte ainsi que la désignation indiquée sur chacune des barrettes de test).

Pour une réalisation et une interprétation correctes du test EBV LINE, il est impératif d'utiliser un contrôle cut-off spécifique aux paramètres et au lot pour chaque test.

**Pour obtenir un diagnostic sûr des EBV, réaliser l'LINE
pour les IgG et pour les IgM.**

1. Effectuer le test à température ambiante.
2. Pour chaque échantillon, déposer une bandelette dans la rainure d'un bac d'incubation propre. Dans la mesure du possible, saisir les bandelettes uniquement au niveau de leur extrémité portant un marquage.
3. Pour chaque bandelette, déposer 1,5 ml de **tampon de dilution et de lavage** prêt à l'emploi et placer le tout sur l'agitateur. Veiller à ce que les bandelettes de test en nitrocellulose soient recouvertes de liquide de façon homogène ; les bandelettes ne doivent pas sécher pendant toute la durée du test.
4. Les bandelettes de test en nitrocellulose renforcée sont complètement humidifiées au bout d'une minute et elles peuvent être incubées à plat sur leur face avant ou sur leur face arrière, ou bien en position latérale.
5. Dans la mesure du possible, y pipetter **15 µl de sérum/plasma du patient** resp. **100 µl du contrôle cut off / positif / négatif**, au bord supérieur de la fin de la bande marqué. Incuber les sérums patient et les contrôles pendant **30 minutes** sur l'agitateur. Pendant le pipetage et lorsque l'on dépose les produits, veiller à ce qu'aucune contamination croisée des différents échantillons patients n'ait lieu.
6. Aspirer la totalité du liquide des rainures, ou bien le faire s'écouler avec beaucoup de précaution. Lorsque l'on fait s'écouler le liquide, les bandelettes en nitrocellulose restent collées au fond des rainures. Egoutter le liquide restant sur un papier absorbant.
7. **Laver** les bandelettes : incuber chacune des bandelettes avec 1,5 ml de tampon de dilution et de lavage **3 x 5 minutes** sur l'agitateur. Toujours aspirer ou faire égoutter la totalité du tampon de dilution. Avant la fin du dernier lavage, préparer la quantité nécessaire de dilution fraîche de conjugué (voir le tableau).
8. Aspirer la totalité du liquide des rainures, ou bien le faire s'écouler (voir le point 6).
9. Dans chacune des rainures d'incubation correspondantes, déposer 1,5 ml de la **dilution de conjugué** préparée et incuber le tout pendant **30 minutes** sur l'agitateur.
10. Aspirer la totalité du liquide des rainures, ou bien le faire s'écouler.
11. **Laver** les bandelettes : incuber chacune des bandelettes avec 1,5 ml de tampon de dilution et de lavage **3 x 5 minutes** sur l'agitateur. Toujours aspirer ou faire égoutter la totalité du tampon de dilution. Rincer ensuite **une fois pendant une minute** avec de l'**eau distillée /désionisée**.
12. Aspirer la totalité du liquide des rainures, ou bien le faire s'écouler (voir le point 6).
13. Déposer 1,5 ml de **substrat en solution** prêt à l'emploi dans chacune des rainures et laisser se développer sur l'agitateur pendant **10 ± 3 minutes**.
14. **Arrêter** le développement de la couleur en éliminant des rainures le substrat en solution. Laver ensuite les bandelettes **trois fois** et sans incubation intermédiaire. Pour chaque lavage, utiliser 1,5 ml d'eau **distillée/désionisée**.
15. Faire égoutter l'eau distillée/désionisée et faire sécher les bandelettes sur un papier absorbant propre. La coloration de l'arrière-fond que l'on peut observer lorsque les bandelettes en nitrocellulose sont humides disparaît complètement lorsque les bandelettes sont sèches. Les bandelettes en nitrocellulose renforcée nécessitent une durée de séchage plus longue que les bandelettes classiques en nitrocellulose.
16. Utiliser le protocole d'évaluation ci-joint pour l'interprétation des résultats. Les informations des bandes très spécifiques inscrites sur la fiche-journal facilitent l'interprétation des résultats des échantillons des patients.

Schéma du déroulement du test, voir dernière page

8.4 Utilisation de dispositifs de traitement automatisé des immunoempreintes

Pour l'exécution automatisée des blots et des LINE, les appareils suivants sont validés : Apollo et ProfiBlot. En principe, tous les automates blot courants sont adéquats.

9. Interprétation du test

Pour garantir une interprétation sûre, chaque bandelette LINE est dotée de deux contrôles.

1. **Contrôle sérique** (= serum control) :
La bande d'incubation sérique n'apparaît en dessous de la ligne de marquage (= markline) qu'après l'incubation avec le sérum patient.
2. **Contrôle de conjugué** (= conjugate control) :
La bandelette LINE a une bande de contrôle du conjugué qui apparaît avec le conjugué correspondant après l'incubation.

Le test est valide si le contrôle sérique et le contrôle interne du conjugué sont clairement visibles sur la bandelette en nitrocellulose qui a été développée.

Se reporter à la fiche-journal pour obtenir des informations sur la position de la bande de contrôle sérique/de conjugué.

9.1 Interprétation des échantillons des patients

Se reporter à la fiche-journal pour obtenir des informations sur la position et la désignation de la bande réactive.

Bandes IgM : gp125, p18, EA-D

Bandes IgG : EBNA1, gp125, p18, EA-D

9.2 Utilisation du contrôle cut-off

Les bandes dont l'intensité est plus faible que celle de la/des bande(s) cut-off du contrôle cut-off ne seront pas prises en compte dans l'interprétation.

Bandes cut-off IgG :

1. p18 pour l'interprétation :	de la bande gp125-, p18- et EA-D de la bande EBNA1, si la sérologie IgM est positive
2. EBNA1 pour l'interprétation :	de la bande EBNA1, si la sérologie IgM est négative

Bande cut-off IgM : **p18** pour l'interprétation : de la bande gp125-, p18- et EA-D

9.3 Signification des antigènes

Liste des peptides antigéniques synthétiques utilisés (EBNA1, p18, EA-D) et de l'antigène gp125 purifié par affinité de l'antigène nucléaire du virus Epstein-Barr.

Antigène / Désignation	Signification des antigènes	Spécificité des anticorps dans le LINE
EBNA1	Epstein-Barr Nuclear Antigen, une protéine virale exprimée dans le noyau de cellules infectées de manière latente. Les anticorps IgG anti-EBNA1 sont considérés comme des marqueurs fiables d'une infection à EBV passée. Dans de rares cas, il peut ne pas y avoir de réponse immunitaire des IgG à l'EBNA1 (<i>primaire ou secondaire</i>). Chez les sujets immunosupprimés, le titre des anticorps IgG anti-EBNA1 peut fortement diminuer (perte secondaire d'EBNA1).	IgG : marqueur important, hautement spécifique d'une infection à EBV <u>passée</u> .
VCA-gp125	Différents antigènes de virus à capsid (VCA) ont été décrits. Parmi eux, les protéines gp125 et p18 sont considérées comme immunodominantes. Les anticorps IgM anti-VCA-gp125/p18 disparaissent normalement quelques semaines après l'infection, les anticorps IgG anti-VCA-gp125/p18 persistent toute la vie. S'ils sont réactivés, des anticorps IgM anti-VCA-gp125/p18 peuvent de nouveau se former occasionnellement.	IgG-gp125 : marqueur général hautement spécifique des infections à EBV IgM : hautement spécifique d'une <u>primo-infection</u> par EBV
VCA-p18	Voir aussi les explications sous VCA-gp125, « Importance ». Dans la sérologie IgM, le peptide p18 est un marqueur hautement spécifique des primo-infections. Dans les primo-infections, il y a normalement d'abord une réponse nette des anticorps IgM anti-p18, suivie d'une augmentation des anticorps IgG anti-p18. Cette augmentation des anticorps IgG atteint son maximum lorsque les titres d'IgM diminuent et avant l'apparition d'une réponse immunitaire des IgG contre l'EBNA1.	IgG-p18 : marqueur hautement spécifique du contact avec l'EBV à un stade avancé IgM : hautement spécifique d'une <u>primo-infection</u> par EBV
EA-D	« Early Antigen-Diffuse » fait partie des antigènes précoces synthétisés dans le cycle de réplication virale (phase active de l'infection). Les anticorps IgG	IgG :

	et IgM anti-EAD surviennent typiquement dans les primo-infections avec un EBNA-IgG négatif. Pendant la convalescence, les anticorps IgG anti-EAD diminuent, mais ils peuvent de nouveau augmenter fortement en cas de réactivation de l'EBV. Cette augmentation des anticorps ne donne cependant pas d'indication sur la pertinence clinique d'une réactivation de l'EBV.	1.) spécifique de <u>primo-infections à EBV</u> 2.) marqueur sérologique d'une réactivation de l'EBV IgM : spécifique de <u>primo-infections à EBV</u>
--	---	--

9.4 Critères d'interprétation

L'interprétation des résultats sérologiques doit toujours inclure le tableau clinique, les données épidémiologiques et les autres résultats d'analyse existants.

Interprétation recommandée pour les IgM

Bande(s)	Interprétation	Évaluation
Pas de bande ou Bande(s) < bande cut-off	négative	Pas d'anticorps IgM anti-EBV détectables.
gp125 ≥ bande cut-off (p18)	positive	Indice d'une <u>primo-infection</u> , en particulier en cas d'absence de réponse immunitaire des IgG anti-EBNA1 (voir aussi Évaluation des IgG pour EBNA1).
p18 ≥ bande cut-off (p18)	positive	Indice d'une <u>primo-infection</u> , en particulier en cas d'absence de réponse immunitaire des IgG anti-EBNA1 (voir aussi Évaluation des IgG pour EBNA1).
EA-D isolément réactif ≥ bande cut-off (p18)	négative	Des anticorps IgM anti-EAD se forment <u>souvent lors de primo-infections</u> , mais ils apparaissent toujours avec des anticorps IgM anti-p18 et/ou gp125 et ne sont donc pas pris en considération dans l'évaluation.

Interprétation IgG recommandée en cas d'interprétation IgM négative

Interprétation IgM	Présence de bande(s) d'IgG ≥ bande cut-off				Interprétation IgG	Exemple de formulation de résultat
	Bande cut-off EBNA1 ≥ EBNA1	gp125 ≥ Bande cut-off p18	p18 ≥ Bande cut-off p18	EA-D ≥ Bande cut-off p18		
Négatif	nég.	nég.	nég.	nég.	Négatif	Aucun anticorps dirigé contre l'antigène de L'EBV détecté
	pos.	nég./pos.	nég./pos.	nég./pos.	Positif	Indication d'une infection à EBV antérieure
	nég.	pos.	pos.	nég./pos.	Positif	Indication d'une infection à EBV antérieure
	nég.	pos.	nég.	nég.	Positif	Indication de contact avec l'EBV. Distinction entre une primo-infection et une infection antérieure impossible. Contrôle recommandé
	nég.	nég.	pos.	nég.	Positif	Indication d'une infection à EBV antérieure. Contrôle recommandé
	nég.	nég.	nég.	pos.	Positif	Indication de contact avec l'EBV. Contrôle fortement recommandé.

	nég.	pos.	nég.	pos.	Positif	Soupçon de primo-infection à EBV. Contrôle fortement recommandé
	nég.	nég.	pos.	pos.	Positif	Indication de contact avec l'EBV. Distinction entre une primo-infection et une infection antérieure impossible. Contrôle recommandé

Interprétation IgG recommandée en cas d'interprétation IgM positive

Interprétation IgM	Présence de bande(s) d'IgG ≥ bande cut-off				Interprétation IgG	Exemple de formulation de résultat
	EBNA1	gp125	p18	EA-D		
Positif	nég.	nég.	nég.	nég.	Négatif	Indication de primo-infection
	pos.	nég./pos.	nég./pos.	nég./pos.	Positif	Indication d'une infection à EBV antérieure
	nég.	pos.	nég./pos.	nég./pos.	Positif	Indication de primo-infection
	nég.	nég./pos.	pos.	nég./pos.	Positif	Indication de primo-infection
	nég.	nég./pos.	nég./pos.	pos.	Positif	Indication de primo-infection

9.5 Limites du test

1. Un résultat négatif du transfert n'exclut pas complètement la possibilité d'une infection à EBV.
2. Dans de rares cas, les sérums des patients peuvent afficher des bandes « inversées » (fond sombre, bandes blanches). Ne pas les interpréter : l'immunoempreinte n'est pas interprétable dans ces cas. Le sérum doit être contrôlé à l'aide d'autres méthodes sérologiques.
3. La sérologie EBV à elle seule ne fournit pas d'informations fiables sur la pertinence clinique d'une réactivation (9).
4. Un anti-EBNA1 négatif n'est pas forcément un indice d'une primo-infection. Chez les patients immunosupprimés, une perte secondaire d'anti-EBNA1 peut se produire et chez 5% des porteurs de l'EBV (EBNA1-nonresponder), il n'y a pas de formation d'anti-EBNA1 (7).
5. Un résultat VCA-IgM négatif n'exclut pas la possibilité d'une primo-infection, car dans quelques cas d'infection aiguë, il n'y a pas de formation de VCA-IgM (IgM-nonresponder) (7).
6. Des anticorps transmis passivement peu de temps avant l'examen peuvent influencer sur le résultat de la sérologie EBV. Cela vaut par exemple pour les transfusions sanguines ou la transmission d'anticorps de la mère au nourrisson.

10. Bibliographie

1. Evans, A.S., J.C. Niedermann, L.C. Cenabre, B. West and V.A. Richards. (1975). A prospective evaluation of heterophile and EBV specific IgM antibody tests in clinical and subclinical infectious mononucleosis. J. Infect. Dis. 132:546-554.
2. Nikoskelainen, J., J. Leikola and E. Klemola. (1974). IgM antibodies specific for EBV in IM without heterophile antibodies. Br. Med. J. Oct 12.4(5936)72-5.
3. Klemola, E., R. von Essen, G. Henle and W. Henle. (1970). Infectious-monomucleosis-like disease with negative heterophil agglutination test. Clinical features in relation to Epstein-Barr virus and cytomegalovirus antibodies. J. Infect. Dis. Jun :121(6) :608-614.
4. Sumaya, C.V. and Y. Ench. (1985). Epstein-Barr virus infectious mononucleosis in children. II. Heterophil antibody and viral-specific responses. Pediatrics Jun: 75(6)1011-9.
5. Schmitz, H., D. Volz, C. Krainick-Riechert and M. Schere. (1972). Acute Epstein-Barr virus infections in children. Med Microbiol Immunol. 158(1):58-63.
6. Inoue, N. et al. (1992). Use of enzyme-linked immunosorbent assays with chimeric fusion proteins to titrate antibodies against Epstein-Barr virus nuclear antigen 1. J Clin Microbiol. Jun;30(6):1442-8.

7. Bauer, G. (2001). Simplicity through complexity: immunoblot with recombinant antigens as the new gold standard in Epstein-Barr virus serology. Clin Lab. 47(5-6):223-30.
8. Modrow, S. und D. Falke (2010). Das Epstein-Barr Virus. S. 572-577. In: Molekulare Virologie, Spektrum Verlag, ISBN: 978-3-8274-1833-3.
9. Gärtner BC et al. (2000). No correlation in Epstein-Barr virus reactivation between serological parameters and viral load. J Clin Microbiol. Jun;38(6): 2458

11. Symboles



Voir le mode d'emploi.

12. Schéma du déroulement du test

Réalisation du test en bref :

Incubation des échantillons	30 minutes	15 µl de sérum/plasma du patient/100 µl de contrôle dans 1,5 ml de tampon de dilution/tampon de lavage
Lavage	3 x 5 minutes	Avec 1,5 ml de tampon de lavage et de dilution
Incubation du conjugué	30 minutes	Avec 1,5 ml de conjugué dilué (1 + 100)
Lavage	3 x 5 minutes	Avec 1,5 ml de tampon de lavage et de dilution
	1 x 1 minute	Avec de l'eau distillée/désionisée
Incubation du substrat	10 ± 3 minutes	Avec 1,5 ml de substrat en solution
Arrêt	3 x sans incubation.	Avec 1,5 ml de l'eau distillée/désionisée

Tableau de dilution du conjugué : (valeurs arrondies)

Nbre de bandelettes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Tampon de dilution et de lavage	1,5ml	3,0ml	4,5ml	6,0ml	7,5ml	9,0ml	11,0ml	12,0ml	14,0ml	15,0ml
Concentré de conjugué	15µl	30µl	45µl	60µl	75µl	90µl	110µl	120µl	140µl	150µl
Volume final	1,515ml	3,03ml	4,545ml	6,06ml	7,575ml	9,09ml	11,11ml	12,12ml	14,14ml	15,15ml

Nbre de bandelettes	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Tampon de dilution et de lavage	17,0ml	18,0ml	20,0ml	21,0ml	23,0ml	24,0ml	26,0ml	27,0ml	29,0ml	30,0ml
Concentré de conjugué	170µl	180µl	200µl	210µl	230µl	240µl	260µl	270µl	290µl	300µl
Volume final	17,17ml	18,18ml	20,2ml	21,21ml	23,23ml	24,24ml	26,26ml	27,27ml	29,29ml	30,3ml

Nbre de bandelettes	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Tampon de dilution et de lavage	32,0ml	33,0ml	35,0ml	36,0ml	38,0ml	39,0ml	41,0ml	42,0ml	44,0ml	45,0ml
Concentré de conjugué	320µl	330µl	350µl	360µl	380µl	390µl	410µl	420µl	440µl	450µl
Volume final	32,32ml	33,33ml	35,35ml	36,36ml	38,38ml	39,39ml	41,41ml	42,42ml	44,44ml	45,45ml

Nbre de bandelettes	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Tampon de dilution et de lavage	47,0ml	48,0ml	50,0ml	51,0ml	53,0ml	54,0ml	56,0ml	57,0ml	59,0ml	60,0ml
Concentré de conjugué	470µl	480µl	500µl	510µl	530µl	540µl	560µl	570µl	590µl	600µl
Volume final	47,47ml	48,48ml	50,5ml	51,51ml	53,53ml	54,54ml	56,56ml	57,57ml	59,59ml	60,6ml