

## Enzywell Epstein Barr EBNA IgG

### 1° Principe :

Le test ENZYWELL Epstein Barr EBNA IgG est une technique immunoenzymatique en phase hétérogène non compétitive indirect. L'antigène nucléaire Epstein Barr, obtenu par une technique recombinante, est fixé sur la microplaque.

Au cours de l'incubation avec le sérum humain dilué, les immunoglobulines spécifiques, éventuellement présentes, se lient à l'antigène.

Les lavages successifs, permettent d'éliminer les protéines non liées à l'antigène. Une seconde phase d'incubation est ensuite réalisée après avoir ajouté le conjugué marqué à l'anticorps monoclonal anti-IgG humaines.

Le conjugué non fixé à l'antigène est éliminé par un nouveau lavage. L'addition du substrat provoque l'apparition d'une coloration.

L'intensité de la coloration qui se développe est proportionnelle à la concentration en anticorps spécifiques présents dans le sérum analysé.

### 2° Réactifs :

<b>Anticorps monoclonaux anti-IgG humaines marqués à la peroxydase</b>
<b>Contrôle positif</b>
<b>Contrôle seuil</b>
<b>Contrôle négatif IgG</b>
<b>Tampon de lavage</b>
<b>Diluant</b>
<b>Absorbant</b>
<b>Substrat</b>
<b>Solution d'arrêt</b>

### 3° Mode opératoire :

Diluer les échantillons au 1/26<sup>ème</sup>, en versant 40 µl de sérum dans 1 ml de diluant préparé.

#### ▪ Puits échantillons :

Ajouter 50 µl d'échantillon dilué + 50 d'absorbant dans des puits de la microplaque.

#### ▪ Puits contrôles :

Distribuer 100 µl de contrôles purs. Ne pas ajouter d'absorbant.

#### ▪ Puits blanc réactif :

Distribuer 100 µl de substrat dans une cupule. Ne pas ajouter d'absorbant.

Couvrir les cupules avec la feuille de protection et incuber à 37°C pendant 45 minutes. Effectuer 4 lavages de 30 secondes en utilisant 300 µl de tampon de lavage.

Ajouter 100 µl de conjugué dans chaque puits. Couvrir les cupules avec la feuille de protection et incuber à 37°C pendant 45 minutes. Effectuer 4 lavages de 30 secondes en utilisant 300 µl de tampon de lavage.

Ajouter 100 µl de substrat dans chaque puits. Laisser incuber 15 minutes à température ambiante.

Ajouter 100 µl de solution d'arrêt pour arrêter la réaction enzymatique.

Lire la densité optique à 450 nm dans les 30 minutes.

#### 4° Validation des résultats, contrôle qualité :

Après avoir lu toutes les absorbances à 450 nm, déduire la valeur du blanc réactif ( $\leq 0,150$ ) de toutes les autres valeurs.

- Le contrôle seuil doit être analysé en double. Aucune valeur de D.O. ne doit s'écarter de plus de 25% de la valeur moyenne. Eliminer éventuellement les valeurs aberrantes et recalculer la moyenne.
- Le contrôle positif doit avoir une D.O. au moins 1,5 fois supérieure à celle du contrôle seuil.
- Le rapport des D.O. du contrôle négatif et du contrôle seuil doit être inférieur à 0,6.
- La D.O. du contrôle seuil doit être  $\geq 0,2$  à 450 nm et  $> 0,16$  à 450-620 nm.

#### 5° Interprétation des résultats :

##### • Résultats qualitatifs :

Si la D.O. de l'échantillon est supérieure à celle du contrôle seuil, l'échantillon est positif pour les IgG anti-EBNA.

Calculer le rapport entre la valeur moyenne des D.O. de l'échantillon et celles du contrôle seuil.

L'échantillon sera considéré comme :

Positif	Rapport > 1,2
Douteux	Rapport = D.O.
Négatif	Rapport < 0,8

En cas de résultats douteux, répéter le test. Si le résultat reste douteux, refaire le test sur un nouveau prélèvement de sang.

- **Résultats semi-quantitatifs :**

Les résultats peuvent être exprimés en Unités Arbitraires (UA), selon une opération simple :

$$\text{Indice de positivité} = \frac{\text{D.O.échantillon}}{\text{D.O.contrôle seuil}}$$