

REF

701118

Rx Only

Application

Le QUANTA Flash RNP est un dosage immunologique par chimiluminescence pour la mesure semi-quantitative des anticorps IgG anti-ribonucléoprotéiques (RNP) dans le sérum humain. La présence de ces anticorps anti-RNP peut être utilisée en association avec des résultats cliniques et d'autres tests de laboratoire pour faciliter le diagnostic du lupus érythémateux disséminé (LED) et de la connectivite mixte.

Résumé et explication du test

Les anticorps anti-nucléaires (ANA) sont présents dans une grande diversité de pathologies du tissu conjonctif et servent à ce titre de test de dépistage sensible.¹

Les sérum positifs aux ANA réagissent avec plusieurs antigènes différents, notamment les petites ribonucléoprotéines nucléaires (snRNP). Les snRNP sont des complexes ARN-protéine qui se combinent au pré-ARNm non modifié et à diverses autres protéines pour former un splicéosome, grand complexe moléculaire ARN-protéine, sur lequel se produit un épissage du pré-ARNm. Les snRNP se composent de petits ARN nucléaires (snARN), à savoir U1, U2, U4, U5 et U6, ainsi que d'un groupe de protéines appelées petites ribonucléoprotéines nucléaires, qui forment ensemble le noyau Sm stable de la snRNP.^{2,3} Ce noyau Sm des snRNP se compose des protéines B/B', D1, D2, D3, E F et G. Les anticorps anti-RNP réagissent spécifiquement avec la U1 snRNP ; on les appelle souvent « anticorps anti-U1 RNP ». Les antigènes auxquels les anticorps anti-U1 RNP se lient constituent une protéine de 70 kDa, composée de protéines A et C.^{2,3} L'antigène U1-RNP naturel contient non seulement des sites de liaison des épitopes ou des anticorps propres à l'U1 RNP, mais aussi des antigènes Sm. Par conséquent, la réponse des anticorps du patient contre les antigènes Sm isolés doit être envisagée lors de la communication des résultats anti-RNP.

Les anticorps anti-antigène RNP sont présents en moyenne chez 25 % des patients souffrant d'un lupus érythémateux disséminé (LES), mais peut aussi se retrouver chez des patients atteints d'autres pathologies du tissu conjonctif, notamment d'un syndrome de Sjögren, d'une sclérodermie généralisée et de polymiosite.³⁻⁵ Les titres élevés d'anticorps anti-U1 RNP (isolés) sont très caractéristiques de la pathologie mixte du tissu conjonctif.⁶⁻⁸ Les anticorps anti-RNP sont associés à une évolution relativement bénigne du LES, avec un moindre taux d'atteinte rénale et du système nerveux central (SNC).⁹

Diverses méthodes, y compris la double diffusion d'Ouchterlony et l'agglutination passive, ont été utilisées pour détecter les anticorps anti-RNP. Des tests ELISA utiles en clinique ont également été mis au point pour détecter les anticorps anti-RNP. Le QUANTA Flash RNP est un test CIA (immunodosage de chimiluminescence) très sensible, destiné à la détection et à la mesure des anticorps anti-RNP, qui fournit des résultats semi-quantitatifs sur une large plage de mesure analytique, avec un accès aléatoire pratique, le chargement continu des échantillons et une durée de test courte.

Principes du test

La RNP native purifiée est revêtue sur des billes paramagnétiques stockées dans la lyophilisées cartouche de réactifs. Lorsque la cartouche de test est prête à être utilisée pour la première fois, une solution tampon est ajoutée au tube contenant les billes pour les remises en suspension avec le tampon. La cartouche de réactifs est ensuite chargée sur l'appareil BIO-FLASH.

L'appareil dilue 1:17 un échantillon de sérum patient dans une cuvette en plastique jetable. De petites quantités de sérum patient dilué, les billes de RNP et le tampon de dosage sont tous placés dans une seconde cuvette, puis mélangés. Cette cuvette est incubée à 37 °C. Les billes sont ensuite magnétisées et lavées plusieurs fois. Puis, l'anticorps IgG antihumaine conjugué à l'isoluminol est ajouté à la cuvette et incubé à 37 °C. De nouveau, les billes sont magnétisées et lavées plusieurs fois. Le conjugué d'isoluminol produit une réaction luminescente lorsque les réactifs « déclencheurs » sont ajoutés dans la cuvette. Le système optique BIO-FLASH mesure la lumière produite par cette réaction en unités de luminescence relatives (RLU). Les RLU sont proportionnelles à la quantité de conjugué d'isoluminol lié, qui lui-même est proportionnel à la quantité d'anticorps anti-RNP liée à la RNP sur les billes.

Le test QUANTA Flash RNP utilise une courbe maîtresse prédéfinie spécifique au lot qui est chargée dans l'appareil par le biais du code-barres de la cartouche de réactifs. Selon les résultats obtenus en testant deux étalons, une courbe d'étalonnage spécifique à l'appareil est générée. Le logiciel s'en sert pour calculer les unités de chimiluminescence (CU) à partir des valeurs RLU obtenues pour chaque échantillon.

Réactifs

1. La cartouche de réactifs QUANTA Flash RNP contient les réactifs suivants pour 50 déterminations :
 - a. Billes paramagnétiques revêtues de RNP, lyophilisées.
 - b. Tampon de dosage : de couleur rose, contenant une solution saline tamponnée Tris, du Tween 20, des stabilisateurs de protéine et des conservateurs.
 - c. IgG marqueur : anticorps IgG antihumaine marqué à l'isoluminol, contenant du tampon, des stabilisateurs de protéines et un conservateur.
2. Tampon de remise en suspension, 1 flacon : contenant du tampon, des stabilisateurs de protéine et des conservateurs.

Avertissements

1. L'azoture de sodium est utilisé comme conservateur. Il s'agit d'un poison qui peut être toxique en cas d'ingestion ou d'absorption par la peau ou les yeux. Cette substance peut réagir avec les canalisations en plomb ou en cuivre pour former des azides de métal potentiellement explosifs. Après l'évacuation des réactifs, laver à grande eau afin d'éviter des dépôts dans les canalisations et les éviers.
2. Lors de la manipulation de ces produits, utiliser un équipement de protection personnelle approprié.
3. Les éclaboussures de réactifs doivent être nettoyées immédiatement. Respecter les règlements environnementaux en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est pour un usage diagnostique *In Vitro*.
2. Ce test doit uniquement être utilisé dans l'appareil BIO-FLASH.
3. Il est recommandé de respecter strictement le protocole de remise en suspension.
4. Une fois ouverte, cette cartouche de réactifs doit être conservée dans le carrousel de réactifs de l'appareil. Veiller à éviter les éclaboussures de réactifs la première fois que la cartouche de réactifs est placée dans l'appareil.
5. La contamination des réactifs par produit chimique peut être due à un nettoyage ou un rinçage inadapté de l'appareil. Les résidus de produits chimiques courants en laboratoire, tels que le formol, l'eau de Javel, l'éthanol ou le détergent, peuvent provoquer des interférences avec le test. Veiller à suivre la procédure de nettoyage de l'appareil recommandée dans le manuel de l'utilisateur du BIO-FLASH.

Conditions de conservation

1. Conserver les cartouches de réactifs non ouvertes et le tampon de remise en suspension entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption dans des conditions de stockage et d'utilisation conformes.
2. Les cartouches de réactifs ouvertes doivent être conservées à bord de l'appareil. Le logiciel BIO-FLASH surveille la date de péremption (en cours d'utilisation) des cartouches de réactifs à bord de l'appareil, de même que la date de péremption du réactif (lors du stockage). Le système n'autorisera pas l'utilisation d'une cartouche si sa date de péremption est dépassée.

Prélèvement des échantillons

Ce test doit être réalisé sur des échantillons de sérum. Les échantillons ayant subi une contamination microbienne et thermo-traités ou contenant des particules visibles ne doivent pas être utilisés. Les échantillons contenant jusqu'à 10 mg/dL de bilirubine, 200 mg/dL d'hémoglobine, 1000 mg/dL de triglycérides, 224 mg/dL de cholestérol ou 500 UI/mL de facteur rhumatoïde IgM n'ont produit aucune interférence avec le test QUANTA Flash RNP.

Après prélèvement, le sérum doit être séparé du caillot. Le document H18-A4 du CLSI recommande de conserver les échantillons dans les conditions suivantes.

1. Conserver les échantillons à température ambiante pendant 8 heures maximum.
2. Si le test n'est pas effectué dans les 8 heures, réfrigérer l'échantillon entre 2 et 8 °C.
3. Si le test n'est pas effectué dans les 48 heures, ou pour expédier l'échantillon, congeler à -20°C ou moins. Bien agiter les échantillons congelés après décongélation et avant le test.

Procédure

Matériels fournis

- 1 Cartouche de réactifs QUANTA Flash RNP
- 1 Tampon de remise en suspension
- 1 Pipette de transfert

Matériels supplémentaires requis mais non fournis

Appareil BIO-FLASH avec ordinateur

Rinçage du système BIO-FLASH (réf. : 3000-8205)

Déclencheurs BIO-FLASH (réf. : 3000-8204)

Cuvettes BIO-FLASH (réf. : 3000-8206)

Étalons QUANTA Flash RNP (réf. : 701116)

Contrôles QUANTA Flash RNP (réf. : 701117)

Utilisation de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH

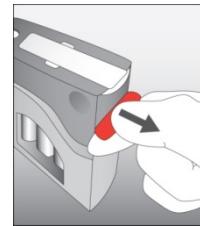
1. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH. Pour toute information complémentaire et pour résoudre les problèmes liés à ce test, contacter le service technique d'Inova Diagnostics, Inc. à l'adresse ou au numéro de téléphone indiqués à la fin de cette notice.
2. Pour vider le conteneur de déchets solides, ouvrir le tiroir de déchets. Retirer le conteneur de déchets solides et jeter les cuvettes usagées. Remettre le conteneur de déchets solides en place, fermer le tiroir de déchets, puis cliquer sur **Yes** dans la fenêtre **Empty Waste Drawer**.
3. Pour remplacer les déclencheurs, cliquer sur le bouton **Bulks Inventory F9** (en haut à droite).
 - a. À l'écran **Inventory – Bulks**, cliquer sur le bouton **Triggers** à gauche. Une nouvelle fenêtre, intitulée **Add Triggers – Remove old bottles**, apparaît.
 - b. Ouvrir le tiroir de déchets et le retirer de l'appareil BIO-FLASH. Éliminer les cuvettes éventuellement présentes dans le tiroir de déchets secs. Cliquer sur **Yes** dans la fenêtre **Empty Waste Drawer**. Retirer les flacons de déclencheur de leur support et cliquer sur le bouton **Next**. Dévisser les anciens flacons de déclencheur de leur capuchon et les remplacer par de nouveaux. Veiller à procéder un flacon à la fois et à faire correspondre les couleurs des capuchons (blanc avec blanc et rouge avec rouge).
 - c. Suivre les instructions de la nouvelle fenêtre **Add Triggers – Add Trigger 2 bottle**. Une fois le code-barres accepté, placer le Déclencheur 2 sur le support blanc. Cliquer sur **Next**.
 - d. Suivre les instructions de la fenêtre **Add Triggers – Add Trigger 1 bottle**. Une fois le code-barres accepté, placer le Déclencheur 1 sur le support rouge. Cliquer sur **Finish**. Remettre le tiroir de déchets en place et le fermer.
4. Pour remplacer le conteneur de rinçage du système, cliquer sur le bouton **Bulks Inventory F9** (en haut à droite). À l'écran **Inventory – Bulks**, cliquer sur le bouton **Sys. Rinse**. Dans la nouvelle fenêtre **Add System Rinse – Remove bottles**, cliquer sur **Next**. Suivre les instructions de la nouvelle fenêtre **Add System Rinse – Add bottle**. Une fois le code-barres accepté, cliquer sur **Finish** si nécessaire.
5. Pour vider le conteneur de déchets liquides, cliquer sur le bouton **Fluid Waste** à l'écran **Inventory – Bulks**. Retirer les déchets liquides et les éliminer. Cliquer sur **Next**. Une fois le flacon vide remplacé, cliquer sur **Finish**.

Méthode

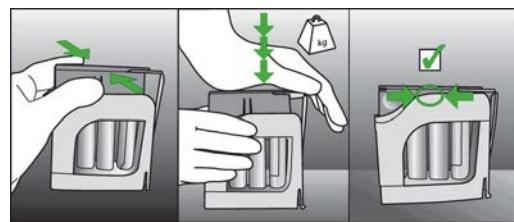
Préparation de la cartouche de réactifs

Pour la première utilisation de la cartouche de réactifs, suivre les instructions suivantes pour l'installer correctement dans l'appareil BIO-FLASH. Remarque : ne pas utiliser la cartouche de réactifs en cas de détérioration visible.

1. Placer la cartouche de réactifs sur une surface solide. Maintenir la cartouche de réactifs en place d'une main. De l'autre main, saisir fermement la languette rouge, située à l'arrière de la cartouche de réactifs, et tirer pour la retirer complètement.



2. Appuyer sur les deux ailettes situées sur les côtés du capuchon perceur (partie grise) et appliquer une pression sur la partie supérieure de la cartouche de réactifs jusqu'à ce qu'elle s'enclenche en position verrouillée. Les ailettes ne doivent plus être visibles. NE PAS RETOURNER LA CARTOUCHE UNE FOIS OUVERTE.



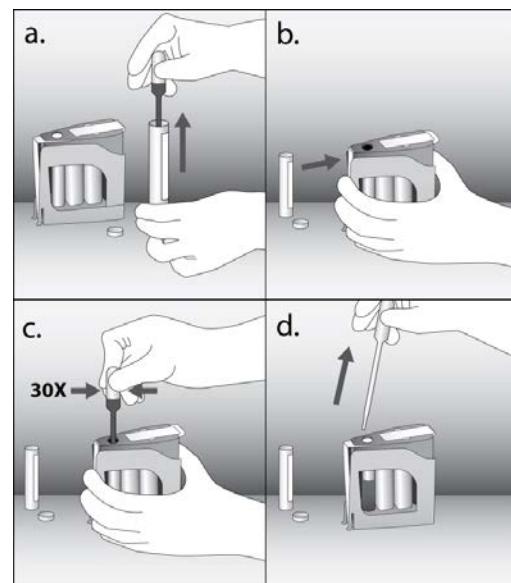
3. Remettre les microparticules de RNP en suspension :

- a. Retirer le capuchon du flacon de tampon de remise en suspension et aspirer le liquide dans la pipette de transfert fournie. Tout le contenu du flacon sera utilisé.

- b. Faire glisser le clapet du couvercle de la cartouche de réactifs en position ouverte en appuyant légèrement sur le côté étroit de la cartouche, tout en la maintenant dans cette position. Transférer avec précaution l'ensemble du contenu du flacon dans le tube de réactif à microparticules, à travers l'orifice unique situé en haut de la cartouche de réactifs.

- c. Mélanger le contenu du tube de réactif à microparticules en aspirant et en distribuant le liquide au moins 30 fois. Si des agrégats de billes sont visibles, continuer à mélanger la solution 30 fois supplémentaires. S'il est impossible de remettre les microparticules en suspension, NE PAS UTILISER LA CARTOUCHE.

- d. Veiller à distribuer tout le liquide avant de retirer la pipette du tube et de l'éliminer.



4. Retirer la pastille adhésive de la partie supérieure de la cartouche de réactifs pour faire apparaître les trois autres orifices.
5. Placer la cartouche de réactifs dans une fente ouverte du carrousel de réactifs de l'appareil BIO-FLASH.

Étalonnage du test

1. Chaque nouveau lot de cartouches de réactifs doit être étalonné avant la première utilisation. Le logiciel ne permet pas d'utiliser un nouveau lot avant qu'il ne soit étalonné.
2. Se reporter à la section intitulée **QUANTA Flash® RNP Calibrators 701116** de cette notice pour obtenir des instructions détaillées sur l'étalonnage de la cartouche de réactifs.
3. Une fois l'étalonnage validé, le lot de cartouches de réactifs en ayant fait l'objet est prêt à l'emploi.

Programmation et analyse des échantillons

1. Appuyer sur le bouton **Worklist** en haut de l'écran, puis sélectionner l'onglet **Racks** en bas.
2. Sélectionner le portoir d'échantillons à utiliser en le mettant en surbrillance à l'écran ou en scannant son code-barres avec le lecteur manuel. Scanner le nom de l'échantillon ou le saisir, puis sélectionner le type d'échantillon, le type de conteneur (tube/cupule) et sélectionner RNP dans le volet de dosages. Recommencer ces étapes pour tous les échantillons.
3. Charger les échantillons dans les positions sélectionnées du portoir, puis charger ce dernier dans le carrousel d'échantillons de l'appareil.
4. Si tous les matériaux requis sont à bord de l'appareil, l'icône de démarrage apparaît en vert en haut de l'écran. Appuyer sur l'icône **Start F4** pour débuter le test.

Contrôle de qualité

Les contrôles QUANTA Flash RNP (vendus séparément sous la référence Inova 701117) contiennent à la fois des contrôles RNP positifs et négatifs. Se reporter à la section intitulée **QUANTA Flash® RNP Controls 701117** de la notice pour obtenir des instructions détaillées sur la saisie des informations requises de chaque contrôle dans le logiciel, ainsi que sur l'analyse des contrôles. Il est recommandé d'analyser les contrôles une fois par jour où le dosage est utilisé. Les utilisateurs doivent toutefois tenir compte des exigences règlementaires en vigueur.

Calcul des résultats

Une courbe maîtresse à cinq points est générée par Inova pour chaque lot de QUANTA Flash RNP. Ses paramètres sont codés dans le code-barres de chaque cartouche de réactifs. Lors de l'étalonnage, une courbe d'étalonnage propre à l'appareil est créée à partir de la courbe maîtresse pour convertir les valeurs RLU en valeurs CU. La réactivité des anticorps anti-RNP peut ensuite être classée selon le tableau ci-dessous.

<u>Réactivité</u>	<u>CU</u>
Négatif	<20
Positif	≥20

La réactivité en unités CU est directement liée au titre de l'auto-anticorps présent dans l'échantillon patient. Les augmentations et diminutions de concentrations d'auto-anticorps patients sont reflétées par les hausses et chutes correspondantes en unités CU, qui sont proportionnelles à la quantité d'anticorps.

La plage de mesure analytique du dosage (déterminée par les points les plus bas et les plus élevés de la courbe maîtresse) s'échelonne de 3,5 CU à 643,8 CU, ce qui correspond à la plage linéaire du dosage. Si le résultat d'un patient est inférieur à 3,5 CU, le système BIO-FLASH indique « <3,5 CU ». Dans la mesure où cette valeur est inférieure à 20 CU, elle est considérée comme négative. Si le résultat d'un patient est supérieur à 643,8 CU, le système BIO-FLASH indique « >643,8 CU ». Ce résultat est considéré comme positif. Le logiciel BIO-FLASH possède une option de réexécution automatique. Si cette option est choisie, l'appareil recommence automatiquement le dosage d'un échantillon dont le résultat est supérieur à 643,8 CU, après avoir décuplé la dilution pour que la valeur mesurée tombe dans la plage de mesure analytique. Le résultat final sera calculé par le logiciel en tenant compte du facteur de dilution complémentaire. La valeur la plus élevée pouvant être mesurée est 643,8 CU, la valeur la plus élevée pouvant être reportée est donc 6438 CU.

Interprétation des résultats

Il est conseillé à chaque laboratoire de vérifier la plage de référence fournie par le fabricant et d'établir sa propre plage normale selon ses contrôles et son groupe de patients, mais aussi en fonction des procédures qu'il a établies.

Il est suggéré d'inclure la déclaration suivante aux résultats rapportés par le laboratoire : « Les résultats suivants ont été obtenus avec un test CIA Inova QUANTA Flash RNP. Les valeurs obtenues avec des méthodes de test de fabricants différents ne peuvent être utilisées de façon interchangeable. ».

Limites du test

1. Certains patients souffrant d'un LES sont négatifs aux anticorps anti-RNP.
2. Les résultats de ce test doivent être utilisés conjointement aux résultats cliniques et à d'autres examens sérologiques.
3. Si les billes revêtues de RNP ne sont pas correctement remises en suspension, les valeurs risquent d'être inférieures à celles obtenues avec des billes correctement remises en suspension.
4. Les caractéristiques de performances de ce test n'ont pas été établies pour d'autres matrices que le sérum.

Seuil

Le seuil de dosage a été déterminé en analysant les échantillons depuis une population de référence de 253 patients. Il a été établi au >99^e centile des résultats obtenus sur les sujets de référence et une valeur de 20 CU lui a été affectée.

Valeurs attendues

Les taux d'auto-anticorps anti-RNP ont été analysés à l'aide du QUANTA Flash RNP sur un panel de 101 donneurs de sang apparemment en bonne santé (71 femmes/30 hommes, âgés de 18 à 55 ans, l'âge moyen étant de 34 ans). Avec un seuil de 20 CU, un (1 %) échantillon était positif au QUANTA Flash RNP. La concentration moyenne était de 5,7 CU et les valeurs s'étendaient de <3,5 à 196,8 CU.

Traçabilité

Il n'existe aucun sérum de référence international permettant de standardiser les tests des anticorps anti-RNP.

Le sérum de référence du CDC (Center of Disease Control and Prevention) pour les anticorps anti-RNP a donc été testé (IS2075 ANA #4 petite particule nucléaire RNP anti-U1 RNP) et a obtenu une concentration supérieure à 643,8 CU.

Sensibilité et spécificité cliniques

Au total, 424 échantillons ont été utilisés dans le cadre de l'étude de validation clinique, dont 146 échantillons de patients souffrant d'un LED et 32 échantillons de patients souffrant d'une connectivite. Les 246 échantillons de contrôle ont été prélevés chez des patients atteints de maladies rhumatismales, d'hépatite auto-immune et de diverses maladies infectieuses.

La spécificité et la sensibilité cliniques de QUANTA Flash RNP sont présentées dans les tableaux ci-dessous, pour le LED (n=146) et la connectivite (n=32) :

Sensibilité et spécificité cliniques du QUANTA Flash RNP pour le LED :

Analyse clinique N=392		Diagnostic			Analyse (confiance à 95 %)
		LED	Sans LED / connectivite	Total	
QUANTA Flash RNP	Positif	42	12	54	Sensibilité = 28,8 % (21,6 - 36,8 %)
	Négatif	104	234	338	Spécificité = 95,1 % (91,6-97,5 %)
	Total	146	246	392	

Sensibilité et spécificité cliniques du QUANTA Flash RNP pour la connectivite :

Analyse clinique N=278		Diagnostic			Analyse (confiance à 95 %)
		Connectivite	Sans LED / connectivite	Total	
QUANTA Flash RNP	Positif	24	12	36	Sensibilité = 75,0 % (56,6 - 88,5 %)
	Négatif	8	234	242	Spécificité = 95,1 % (91,6-97,5 %)
	Total	32	246	278	

Répartition des populations de contrôle pathologiques utilisées dans l'étude de validation :

Groupe de patients	N	Positif	Pourcentage de positifs
Hépatite auto-immune	2	0	0%
Sclérodermie	76	8	10,5%
Syndrome de Sjögren	6	0	0%
Polyarthrite rhumatoïde	70	2	2,9%
Polymyosite / dermatomyosite	14	1	7,1%
Autre maladie rhumatoïde systémique	48	0	0%
Hépatite virale	20	0	0%
Maladie infectieuse (VIH + syphilis)	10	1	10%
Total	246	12	4,9%

Comparaison des méthodes avec dispositif de référence

Les échantillons utilisés dans l'analyse de comparaison des méthodes provenaient des études de validation clinique (patients souffrant d'un LED ou d'une connectivité et contrôles issus de patients atteints d'autres maladies) ainsi que des échantillons de donneurs de sang apparemment sains, dont les résultats se trouvaient dans la plage de mesure analytique du test. Ces échantillons ont été testés avec le test QUANTA Flash RNP et le test ELISA de référence.

Méthode de comparaison (N = 167)	RNP ELISA			Pourcentage de concordance (confiance à 95 %)
	Positif	Négatif	Total	
CIA QUANTA Flash RNP	Positif	46	6	52
	Négatif	11	104	115
	Total	57	110	167
Concordance pos. = 80,7 % (68,1 – 90,0 %)				Concordance totale = 89,8 % (84,2 – 94,0 %)
Concordance nég. = 94,5 % (88,5 – 98,0 %)				

Précision et reproductibilité

La fidélité du test QUANTA Flash RNP a été évaluée sur 7 échantillons contenant diverses concentrations d'anticorps anti-RNP, conformément au document EP5-A2 du CLSI (Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Procedures - Approved Guideline), avec des échantillons testés en double, deux fois par jour, pendant au moins 20 jours. Les différentes formes de fidélité (intra-analyse, inter-analyses, d'un jour à l'autre et totale) ont été calculées et récapitulées dans le tableau ci-dessous.

ID échantillon	N	Moyenne (CU)	Fidélité intra-analyse (répétabilité)		Fidélité inter-analyses		Fidélité d'un jour à l'autre		Fidélité totale	
			Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV	Écart type	% CV
1	92	6,7	0,2	3,5	0,0	0,0	0,4	5,3	0,4	6,4
2	84	24,8	0,9	3,7	0,0	0,0	0,8	3,0	1,2	4,8
3	88	31,6	1,1	3,4	0,7	2,2	2,7	8,5	3,0	9,4
4	92	120,7	4,9	4,1	4,5	3,7	4,5	3,7	8,0	6,6
5	88	218,6	9,3	4,2	7,8	3,6	20,3	9,3	23,6	10,8
6	88	319,5	12,0	3,7	14,0	4,4	11,6	3,6	21,8	6,8
7	96	409,6	19,6	4,8	18,2	4,5	23,3	5,7	35,5	8,7

Plage de mesure analytique

La limite de détection du test QUANTA Flash RNP s'élève à 1129 RLU, valeur inférieure à la plage de mesure analytique du test. Cette limite a été déterminée en accord avec la recommandation EP17-A du CLSI, avec une proportion de faux positifs (alpha) inférieure à 5 % et de faux négatifs (beta) inférieure à 5 % ; d'après la réalisation de 140 dosages, avec 60 mesures sur des blancs et 80 mesures sur des échantillons à faible concentration. La limite de détection est de 713 RLU.

La plage de mesure analytique du test s'étend de 3,5 CU à 643,8 CU. La linéarité de la plage de mesure analytique a été évaluée par une étude conforme au document EP6-A du CLSI (Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline). Cinq échantillons de sérum aux concentrations anti-RNP variées ont été dilués avec un sérum faiblement négatif pour obtenir des valeurs comprises dans la plage de mesure analytique. Ces cinq échantillons ont présenté une linéarité de dilution individuelle et les données combinées ont produit les résultats suivants avec la régression linéaire :

Échantillon	Pente (IC à 95 %)	Origine à l'ordonnée (IC à 95 %)	R ²
Tous les échantillons (n=5)	1,00 (1,00 à 1,02)	-5,17 (-8,27 à -2,07)	1,00

REF

701116

Rx Only

Application

Les QUANTA Flash RNP Calibrators sont conçus pour une utilisation avec le test CIA QUANTA Flash RNP pour le dosage des anticorps IgG anti-RNP dans le sérum humain. Chaque étalon fournit un point de référence pour la courbe d'étalonnage qui sert à calculer les valeurs des unités.

Résumé et principes de la procédure

Le test CIA QUANTA Flash RNP utilise une courbe maîtresse prédéfinie spécifique au lot, stockée dans le code-barres de la cartouche de réactifs. Les étalons QUANTA Flash RNP sont destinés à produire une courbe d'étalonnage spécifique à l'appareil à partir des paramètres de la courbe maîtresse, le point de décision reposant sur les caractéristiques de performance et l'évaluation clinique du test CIA QUANTA Flash RNP. Avant l'affectation de valeurs, les étalons sont testés sur plusieurs appareils et avec plusieurs lots de réactifs.

Réactifs

1. QUANTA Flash RNP Calibrators 1 (Étalons) : Deux (2) tubes à code-barres contenant 0,3 mL de réactif prédilué, prêt à l'emploi. Étalons contenant des anticorps humains anti-RNP dans des stabilisateurs et des conservateurs.
2. QUANTA Flash RNP Calibrators 2 (Étalons) : Deux (2) tubes à code-barres contenant 0,3 mL de réactif prédilué, prêt à l'emploi. Étalons contenant des anticorps humains anti-RNP dans des stabilisateurs et des conservateurs.

Avertissements

1. Toutes les substances d'origine humaine utilisées pour préparer les étalons de ce produit ont été testées et se sont avérées négatives aux anticorps anti-VIH, HBsAg et VHC par des méthodes approuvées par la FDA. Aucune méthode de test ne peut toutefois garantir que le VIH, le VHB et le VHC ou d'autres agents infectieux sont absents. Les étalons QUANTA Flash RNP doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.¹⁰
2. Utiliser un équipement de protection personnelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
3. Les éclaboussures de réactifs doivent être nettoyées immédiatement. Respecter les règlements environnementaux en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est pour un usage diagnostique *In Vitro*.
2. Les étalons QUANTA Flash RNP sont conçus pour être utilisés avec le test QUANTA Flash RNP.
3. Ne pas transférer les réactifs d'étalons dans des tubes secondaires. L'appareil utilise les codes-barres apposés sur les tubes pour mettre en correspondance les étalons avec le type de test approprié.

4. Une fois le tube d'étalon ouvert, il est utilisable pendant 8 heures maximum en restant débouché à bord de l'appareil, mais le réactif doit ensuite être jeté.
5. La contamination des réactifs par produit chimique peut être due à un nettoyage ou un rinçage inadapté de l'appareil. Les résidus de produits chimiques courants en laboratoire, tels que le formol, l'eau de Javel, l'éthanol ou le détergent, peuvent provoquer des interférences avec le test. Veiller à suivre la procédure de nettoyage de l'appareil recommandée dans le manuel de l'utilisateur du BIO-FLASH.

Conditions de conservation

1. Conserver les étalons non ouverts entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption dans des conditions de stockage et d'utilisation conformes.
2. Les étalons ouverts doivent être éliminés après 8 heures à bord de l'appareil sans bouchon.

Procédure

1. Chaque nouveau lot de cartouches de réactifs doit être étalonné avant la première utilisation. Le logiciel ne permet pas d'utiliser un nouveau lot avant qu'il ne soit étalonné.
2. Chaque étalon doit être mélangé délicatement avant utilisation pour garantir son homogénéité. Éviter la formation de mousse car les bulles peuvent interférer avec la détection du niveau de liquide des appareils. Retirer le capuchon de chaque tube d'étalon et placer ce dernier dans un portoir d'échantillons, les codes-barres pointant à travers les espaces du portoir. Placer le portoir d'échantillons dans le carrousel de l'appareil BIO-FLASH et fermer la porte. L'appareil lit les codes-barres sur les tubes d'étalons, puis identifie la cartouche de réactifs à utiliser. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH.
3. L'appareil analyse chaque étalon en triple. Une fois les étalons analysés, le logiciel doit valider l'étalonnage. À l'écran **Instrument Summary**, cliquer sur le bouton fléché **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Sélectionner **Calibration Ctrl-F3**. Dans la fenêtre **Calibration**, mettre le test souhaité en surbrillance, puis cliquer sur **Details**.
4. Dans la nouvelle fenêtre **Calibration Details**, sélectionner l'étalonnage qui vient d'être effectué. La courbe maîtresse apparaît en lignes pointillées, alors que la courbe d'étalonnage est représentée par une ligne pleine. Si les résultats de l'étalonnage sont valides, un bouton de validation apparaît dans l'angle inférieur gauche de l'écran. Cliquer sur le bouton **Validate Calibration**.
5. Une fois l'étalonnage validé, le lot de cartouches de réactifs en ayant fait l'objet est prêt à l'emploi. Il est recommandé de tester les contrôles QUANTA RNP (vendus séparément sous la référence 701117) après avoir étalonné un lot de cartouches de réactifs.

Traçabilité

Il n'existe aucun sérum de référence international permettant de standardiser les tests des anticorps anti-RNP.

Le sérum de référence du CDC (Center of Disease Control and Prevention) pour les anticorps anti-RNP a donc été testé (IS2075 ANA #4 petite particule nucléaire RNP anti-U1 RNP) et a obtenu une concentration supérieure à 643,8 CU.

Limites

Ces étalons sont conçus pour 4 étalonnages. Le temps total pendant lequel les tubes d'étalons peuvent rester sans capuchon à bord du système ne doit pas dépasser 8 heures. Au-delà, ils doivent être éliminés. L'utilisation des mêmes tubes d'étalons pour plus de 8 heures peut entraîner un étalonnage inadapté du test, qui peut à son tour produire des résultats inexacts.

REF

701117

Rx Only

Application

Les QUANTA Flash RNP Controls sont conçus pour une utilisation avec le test CIA QUANTA Flash RNP pour le contrôle qualité lors du dosage des anticorps IgG anti-RNP dans le sérum humain.

Résumé et principes de la procédure

Les contrôles QUANTA Flash RNP se composent d'un contrôle négatif et d'un contrôle positif. Chacun contient une quantité différente d'anticorps anti-RNP. Les contrôles négatif et positif sont utilisés pour surveiller les performances analytiques du test CIA QUANTA Flash RNP.

Réactifs

1. QUANTA Flash RNP Negative Controls (Contrôles négatifs) : Deux (2) tubes à code-barres contenant 0,5 mL de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps humains anti-RNP dans des stabilisateurs et des conservateurs.
2. QUANTA Flash RNP Positive Controls (Contrôles positifs) : Deux (2) tubes à code-barres contenant 0,5 mL de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps humains anti-RNP dans des stabilisateurs et des conservateurs.

Avertissements

1. Toutes les substances d'origine humaine utilisées pour préparer les contrôles de ce produit ont été testées et se sont avérées négatives aux anticorps anti-VIH, HBsAg et VHC par des méthodes approuvées par la FDA. Aucune méthode de test ne peut toutefois garantir que le VIH, le VHB et le VHC ou d'autres agents infectieux sont absents. Les contrôles QUANTA Flash RNP doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.¹⁰
2. Utiliser un équipement de protection personnelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
3. Les éclaboussures de réactifs doivent être nettoyées immédiatement. Respecter les règlements environnementaux en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est pour un usage diagnostique *In Vitro*.
2. Les contrôles QUANTA Flash RNP sont conçus pour être utilisés avec le test QUANTA Flash RNP.
3. Ne pas transférer les réactifs de contrôle dans des tubes secondaires. Les codes-barres apposés sur les tubes permettent à l'appareil d'identifier le contrôle.
4. Une fois ouvert, chaque tube de contrôle est utilisable jusqu'à 15 fois, avec une durée moyenne à bord de l'appareil de 10 minutes par utilisation, pour un total de 2 heures et 30 minutes.

5. La contamination des réactifs par produit chimique peut être due à un nettoyage ou un rinçage inadapté de l'appareil. Les résidus de produits chimiques courants en laboratoire, tels que le formol, l'eau de Javel, l'éthanol ou le détergent, peuvent provoquer des interférences avec le test. Veiller à suivre la procédure de nettoyage de l'appareil recommandée dans le manuel de l'utilisateur du BIO-FLASH.

Conditions de conservation

1. Conserver les contrôles non ouverts entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption dans des conditions de stockage et d'utilisation conformes.
2. Les contrôles sont conçus pour 15 utilisations, avec une durée moyenne de 10 minutes par utilisation à bord de l'appareil. Le temps total pendant lequel les tubes de contrôles peuvent rester sans capuchon à bord de l'appareil ne doit pas dépasser 2 heures et 30 minutes. Au-delà, ils doivent être éliminés.
3. Pour une stabilité optimale, retirer les contrôles du système immédiatement après utilisation, et les conserver entre 2 et 8 °C, rebouchés, dans leur flacon d'origine.

Procédure

Créer de nouveaux matériaux CQ pour le test RNP :

1. Avant d'utiliser des contrôles QUANTA Flash RNP pour la première fois, le nom, le lot, la date de péremption, la valeur (ou dose) et les informations sur l'écart type cible doivent être entrés dans le logiciel.
2. À l'écran **Instrument Summary**, cliquer sur le bouton fléché **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Sélectionner **CQ Ctrl-F2**. Cliquer sur le bouton **New QC Material**.
3. Une fiche de données spécifique au lot est jointe à chaque kit de contrôle. Introduire d'abord dans le logiciel le nom, le numéro de lot et la date de péremption figurant sur la fiche. Ensuite, cliquer sur le bouton **Add Assay**. À l'écran suivant, vérifier que la case **Show All Assays** est cochée. Sélectionner le test RNP dans la liste, puis cliquer sur **Add**. Pour finir, saisir la dose cible et l'écart type cible. Cliquer sur **Save**. Effectuer cette procédure pour les deux contrôles.

Créer un nouveau lot de matériaux CQ existants :

1. Avant d'utiliser un nouveau lot de contrôles QUANTA Flash RNP pour la première fois, le lot, la date de péremption, la valeur (ou dose) et les informations sur l'écart type cible doivent être entrés dans le logiciel.
2. À l'écran **Instrument Summary**, cliquer sur le bouton fléché **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Sélectionner **CQ Ctrl-F2**. Mettre le test RNP en surbrillance dans la colonne de gauche. Ensuite, mettre le matériau de contrôle approprié en surbrillance à droite (« RNPN » pour le contrôle négatif ou « RNPP » pour le contrôle positif). Cliquer sur le bouton **New QC Lot**.
3. Une fiche de données spécifique au lot est jointe à chaque kit de contrôle. Entrer les informations de cette fiche de données dans le logiciel. Elles doivent inclure le numéro de lot, la date de péremption, la dose cible et l'écart type cible. Si nécessaire, cliquer sur le bouton **Add Assay**. À l'écran suivant, vérifier que la case **Show All Assays** est cochée. Sélectionner le test RNP dans la liste, puis cliquer sur **Add**. Cliquer sur **Save**. Effectuer cette procédure pour les deux contrôles.

Il est recommandé d'utiliser les contrôles QUANTA Flash RNP une fois par jour où le test est utilisé. L'utilisateur doit toutefois tenir compte des exigences réglementaires en vigueur.

Chaque contrôle doit être mélangé délicatement avant utilisation pour garantir son homogénéité. Éviter la formation de mousse car les bulles peuvent interférer avec la détection du niveau de liquide des appareils. Retirer le capuchon de chaque tube de contrôle et placer ce dernier dans un portoir d'échantillons, les codes-barres pointant à travers les espaces du portoir. Placer le portoir

d'échantillons dans le carrousel de l'appareil BIO-FLASH et fermer la porte. L'appareil lit les codes-barres sur les tubes de contrôles, puis identifier la cartouche de réactifs à utiliser. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH.

Traçabilité

Il n'existe aucun sérum de référence international permettant de standardiser les tests des anticorps anti-RNP.

Le sérum de référence du CDC (Center of Disease Control and Prevention) pour les anticorps anti-RNP a donc été testé (IS2075 ANA #4 petite particule nucléaire RNP anti-U1 RNP) et a obtenu une concentration supérieure à 643,8 CU.

Limites

Ces contrôles sont conçus pour 15 utilisations. L'étiquette apposée sur chaque tube de contrôle possède une rangée de 15 cases pouvant être cochées afin de suivre le nombre d'utilisations. Le temps total pendant lequel les tubes de contrôle peuvent rester sans capuchon à bord du système est de 2,5 heures. Au-delà, ils doivent être éliminés.

Bibliographie

1. Tan EM: **Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): Their immunobiology and medicine.** *Advances in Immunology* 1982, **33**: 167-239.
2. Migliorini P, Baldini C, Rocchi V, Bombardieri S: **Anti-Sm and anti-RNP antibodies.** *Autoimmunity.* 2005, **38(1)**:47-54.
3. Benito-Garcia E, Schur PH, Lahita R: American College of Rheumatology Ad Hoc Committee on Immunologic Testing Guidelines. **Guidelines for immunologic laboratory testing in the rheumatic diseases: anti-Sm and anti-RNP antibody tests.** *Arthritis Rheum.* 2004, **15;51(6)**:1030-1044.
4. Egner W: **The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE.** *J Clin Pathol.* 2000, **53(6)**:424-432.
5. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA: **Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens.** American College of Pathologists. *Arch Pathol Lab Med.* 2000, **124(1)**:71-81.
6. Sharp GC, Irvin WS, LaRoque RL, Velez C, Daly V, Kaiser AD, Holman HR: **Association of autoantibodies to different nuclear antigens with clinical patterns of rheumatic disease and responsiveness to therapy.** *J Clin Invest.* 1971, **50(2)**:350-359.
7. Sharp GC, Irvin WS, Tan EM, Gould RG, Holman HR: **Mixed connective tissue disease--an apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA).** *Am J Med.* 1972, **52(2)**:148-159.
8. Kasukawa R: **Mixed connective tissue disease.** *Intern Med.* 1999, **38(5)**:386-393.
9. Reichlin M and Mattioli M: **Correlation of a precipitin reaction to an RNA protein antigen and a low prevalence of nephritis in patients with systemic lupus erythematosus.** *N Eng J Med* 1972, **286**:908-911.
10. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition.** Centers for Disease Control/National Institute of Health, 2009.

Symboles utilisés

IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>In Vitro</i>		Fabricant
Rx Only	Sur ordonnance uniquement, conformément aux dispositions de la FDA.	EC REP	Représentant autorisé
	Consulter le mode d'emploi		Contenu suffisant pour < n > tests
	Limite de température	CONTROL +	Contrôle positif
	Ne pas réutiliser	CONTROL -	Contrôle négatif
	Risques biologiques	CAL 1	Étalon 1
LOT	Code du lot	CAL 2	Étalon 2
REF	Référence catalogue		Carton en papier recyclable
	Date de péremption		Haut

QUANTA Flash est une marque déposée d'Inova Diagnostics Inc. BIO-FLASH est une marque déposée de Biokit S.A. © 2016

Fabriqué par :

Inova Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
États-Unis d'Amérique

Service technique (États-Unis et Canada uniquement) : 877-829-4745

Service technique (en dehors des États-Unis) : 1 858-805-7950

support@inovadx.com

Représentant européen agréé :

Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert, Allemagne
Tél. : +49-6894-581020
Fax : +49-6894-581021
www.mt-procons.com

621115FRA

Mars 2016
Révision 4

