

Reagents

Pour usage diagnostique *In Vitro* .Complexité de CLIA: Modéré

REF

701148

Rx Only

Utilisation prévue

QUANTA Flash Ro60 est un immunodosage par chimiluminescence destiné à la mesure semi-quantitative des auto-anticorps IgG anti-Ro60 dans le sérum humain. Utilisée en association avec des résultats cliniques et d'autres tests de laboratoire, la présence de ces auto-anticorps anti-Ro60 facilite le diagnostic du lupus érythémateux systémique et du syndrome de Sjögren.

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 sensible¹

Les sérums positifs aux ANA réagissent avec plusieurs antigènes nucléaires différents, notamment les petites ribonucléoprotéines nucléaires, comme l'antigène A du syndrome de Sjögren, (SS-A)/Ro. L'anticorps anti-Ro, décrit pour la première fois dans le cadre du lupus érythémateux systémique (LES) et du syndrome de Sjögren (SS), est l'anticorps le plus abondant dirigé contre les antigènes nucléaires solubles (ENA)¹⁻⁴ Deux types d'anticorps anti-Ro ont été décrits : anti-SS-A de 52 kDa (Ro52) et anti-SS-A de 60 kDa (Ro60). Chacun est dirigé contre des antigènes différents. Ces auto-anticorps ont tout d'abord été considérés comme un système uniforme. Cependant, des recherches récentes ont démontré que Ro60 et Ro52 n'appartiennent pas à un complexe macromoléculaire stable et que ces anticorps correspondants présentent des associations cliniques différentes.²

Les anticorps anti-Ro60 réagissent avec une protéine de liaison à l'ARN de 60 kDa, et sont souvent détectés en même temps que les anticorps anti-Ro52 et anti-SS-B. Les auto-anticorps anti-Ro60 sont présents chez 30 à 50 % des patients atteints de LES et chez 50 à 80 % des patients atteints du syndrome de Sjögren.^{1-4,6,7} Les anticorps anti-Ro60 se retrouvent également chez les patients présentant les signes cliniques du LES, mais négatifs aux ANA.⁸ Un résultat positif aux anti-Ro60 constitue l'un des trois Critères de Classification du Syndrome de Sjögren selon l'American College of Rheumatology.⁹ De plus, les anticorps anti-Ro60 et anti-Ro52 revêtent tous deux une importance diagnostique spécifique pour le bloc cardiaque congénital. Le bloc auriculo-ventriculaire congénital (BAVC) isolé est fortement corrélé à la présence chez la mère d'anticorps anti-Ro et anti-SSB.¹⁰⁻¹²

Il faut noter qu'il est possible de manquer l'une des réactivités individuelles, vis-à-vis de Ro52 ou Ro60, dans un dosage ELISA classique reposant sur un mélange des deux anticorps. Environ 20 % des échantillons positifs à Ro52 ou Ro60 ne sont pas détectés avec un mélange des deux antigènes.⁵ Il est donc important de doser individuellement chaque anticorps spécifique.

Diverses méthodes, y compris la double diffusion d'Ouchterlony et l'hémagglutination passive, ont été utilisées pour détecter les anticorps anti-Ro60. Des dosages ELISA à usage clinique ont également été développés. Le QUANTA Flash Ro60 est un immunodosage par chimiluminescence très sensible, destiné à la détection et à la mesure des anticorps Ro60, 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

L'antigène Ro60 recombinant purifié est revêtu sur des billes paramagnétiques, maintenues sous forme lyophilisée dans la 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 remettre en suspension avec le tampon. La cartouche de réactifs est ensuite chargée sur l'appareil BIO-FLASH.

À l'aide de la fonction de rinçage du système, l'appareil dilue selon un rapport 1:23 un échantillon de sérum de patient dans une cuvette en plastique jetable. De petites quantités de sérum de patient dilué, les billes de Ro60 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 antihumain 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 lumineuse 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-Ro60 liée au Ro60 sur les billes.

Le test QUANTA Flash Ro60 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 QUANTA Flash Ro60 Reagent Cartridge contient les réactifs suivants pour 50 dosages :
 - a. Billes paramagnétiques enduites de Ro60, lyophilisées.
 - b. Assay Buffer : de couleur rose, contenant une solution saline tamponnée Tris, du Tween 20, des stabilisateurs de protéines et des conservateurs.
 - c. Tracer IgG: anticorps IgG antihumain marqué à l'isoluminol, contenant du tampon, des stabilisateurs de protéines et un conservateur.
2. Resuspension Buffer, 1 flacon : de couleur rose, contenant du tampon, des stabilisateurs de protéine et des conservateurs.

Avertissements

1. Le tampon de dosage contient un produit chimique (chloramphénicol à 0,02 %) répertorié par l'État de Californie comme provoquant le cancer.
2. 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 oculaire ou cutanée. Cette substance peut réagir avec les canalisations en plomb ou en cuivre pour former des azotures métalliques potentiellement explosifs. Après l'évacuation des réactifs, laver à grande eau afin d'éviter des dépôts dans les canalisations et les éviers.
3. Lors de la manipulation de ces produits, utiliser un équipement de protection personnelle approprié.
4. Les éclaboussures de réactifs doivent être nettoyées immédiatement. Respecter les réglementations environnementales locales, nationales et internationales en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est destiné à 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 inadaptés de l'appareil. Les résidus de produits chimiques courants en laboratoire, tels que le formol, l'eau de Javel, l'éthanol ou les détergents, 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 l'intérieur 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 lot de réactifs (lors du stockage). Le système n'autorise pas l'utilisation d'une cartouche dont la date de péremption est dépassée.

Prélèvement, préparation et manipulation 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. Aucune interférence n'a été détectée avec un taux d'hémoglobine atteignant 200 mg/dL, de triglycérides atteignant 1000 mg/dL, de cholestérol atteignant 224,3 mg/dL, de bilirubine atteignant 10 mg/dL et d'IgM anti-RF atteignant 500 UI/mL. Après prélèvement, le sérum doit être séparé du caillot. Il est recommandé de conserver les échantillons dans les conditions suivantes :

1. Les échantillons peuvent être conservés jusqu'à 48 heures à température ambiante.
2. Les échantillons peuvent être conservés jusqu'à 14 jours entre 2 et 8 °C.
3. Si le test n'est pas effectué dans les 14 jours, ou pour expédier l'échantillon, le congeler à -20 °C ou moins. Les échantillons peuvent être congelés et décongelés jusqu'à 3 fois. Bien agiter les échantillons congelés après décongélation et avant le test.

Procédure

Matériels fournis

- 1 QUANTA Flash Ro60 Reagent Cartridge
- 1 Resuspension Buffer
- 1 Pipette de transfert

Matériel supplémentaire requis mais non fourni

Appareil BIO-FLASH avec ordinateur

BIO-FLASH System Rinse (réf. : 3000-8205)

BIO-FLASH Triggers (réf. : 3000-8204)

BIO-FLASH Cuvettes (réf. : 3000-8206)

QUANTA Flash Ro60 Calibrators (réf. : 701146)

QUANTA Flash Ro60 Controls (réf. : 701147)

Utilisation de l'analyseur par chimiluminescence BIO-FLASH

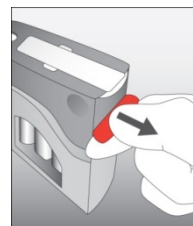
1. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur par chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH. Pour toute information complémentaire et pour résoudre les problèmes liés à ce test, contacter le 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 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

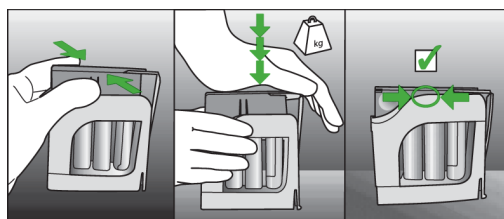
Préparation de la cartouche de réactifs

Lors de la première utilisation de la cartouche de réactifs, respecter 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.

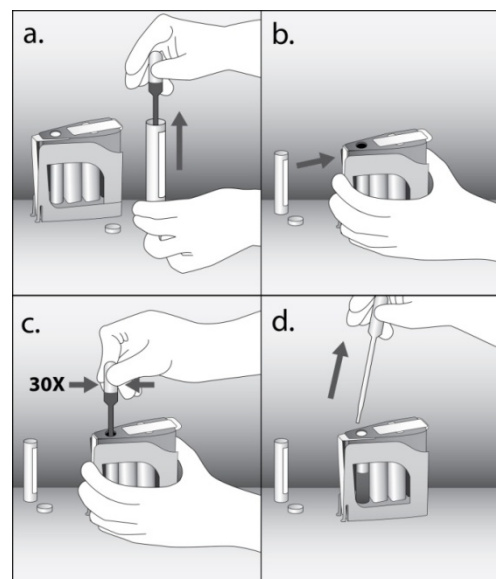


2. Appuyer sur les deux ailettes situées sur les côtés du capuchon perceur (partie grise) et appliquer une pression sur la partie supérieure de la cartouche de réactifs jusqu'à ce qu'elle s'enclenche en position verrouillée. Les ailettes ne doivent plus être visibles. **NE PAS RETOURNER LA CARTOUCHE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



3. Remettre les microparticules de Ro60 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® Ro60 Calibrators 701146** 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 Ro60 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 débiter le test.

Contrôle de la qualité

Les contrôles QUANTA Flash Ro60 Controls (vendus séparément sous la référence Inova 701147) contiennent à la fois des contrôles Ro60 positifs et négatifs. Se reporter à la section intitulée **QUANTA Flash® Ro60 Controls 701147** 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 réglementaires en vigueur.

Calcul des résultats

Une courbe maîtresse à est générée par Inova pour chaque lot de QUANTA Flash Ro60. Ses paramètres sont codés dans le code-barres de chaque cartouche de réactifs. Lors de l'étalonnage, une courbe d'étalonnage spécifique à l'appareil est créée d'après la courbe maîtresse et permet de convertir les unités RLU en unités CU. La réactivité des anticorps dirigés contre les Ro60 peut ensuite être classée conformément au 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 4,9 CU à 1374,8 CU, ce qui correspond à la plage linéaire du dosage. Si le résultat d'un patient est inférieur à 4,9 CU, le système BIO-FLASH indique « <4,9 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 1374,8 CU, le système BIO-FLASH indique « >1374,8 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 1374,8 CU, après avoir décuplé la dilution par 20 pour que la valeur mesurée tombe dans la plage de mesure analytique. Le résultat final est calculé par le logiciel en tenant compte du facteur de dilution complémentaire. La valeur la plus élevée pouvant être mesurée est 1374,8 CU, la valeur la plus élevée pouvant être reportée est donc 27 496 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 Ro60. Les valeurs obtenues avec des méthodes de test de fabricants différents ne doivent être utilisées de façon interchangeable. »

Limites du test

1. Certains patients atteints de LES ou du syndrome de Sjögren ne sont pas positifs aux anticorps anti-Ro60. Dans nos études de validation, 24 % des patients souffrant d'un LES et 67 % de ceux qui présentaient un syndrome de Sjögren ont été positifs aux anticorps anti-Ro60.
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 Ro60 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 performance de ce test n'ont pas été établies pour d'autres matrices que le sérum.

Seuil (plage de référence)

Le seuil du test a été déterminé en analysant 156 échantillons issus d'un groupe de patients de référence constitué de 115 donneurs de sang apparemment sains (15 hommes et 100 femmes, âgés de 19 à 69 ans), 8 échantillons positifs à l'hépatite virale (6 hommes et 2 femmes, âgés de 19 à 54 ans), 5 échantillons positifs à la syphilis (1 homme et 4 femmes, âgés de 27 à 57 ans), 5 échantillons positifs au VIH (4 hommes et 1 femme, âgés de 28 à 51 ans) et 23 échantillons de PR (aucune donnée d'âge ni de sexe disponible). En outre, 12 échantillons présentant des anticorps anti-Ro60 caractérisés ont été analysés. Le seuil a été établi au 99^{ème} centile des résultats obtenus pour les sujets de référence et des résultats des échantillons positifs caractérisés afin de garantir une différenciation optimale entre les positifs et les négatifs. Il a été défini sur une valeur de 20 CU.

Valeurs attendues

La valeur attendue au sein de la population normale est « négatif ». Les concentrations en auto-anticorps anti-Ro60 ont été mesurées chez une cohorte de 98 donneurs de sang apparemment sains (52 femmes et 46 hommes, âgés de 17 à 60 ans) à l'aide du dosage QUANTA Flash Ro60. Avec le seuil de 20 CU, deux (2,0 %) échantillons étaient positifs au QUANTA Flash Ro60. La concentration moyenne était de 6,1 CU et les valeurs s'étendaient de < 4,9 à 84,8 CU.

Traçabilité

Il n'existe aucun sérum de référence international permettant de standardiser les tests des anticorps anti-Ro60.

Les sérums de référence IS2105 ANA #7 et IS2074 ANA #3 du CDC (Center of Disease Control and Prevention) ont été testés ; leur concentration respective était >1374,8 CU et 920,0 CU.

Sensibilité et spécificité cliniques

L'étude de validation clinique implique un total de 475 échantillons, dont 150 patients atteints de LES et 39 patients atteints du syndrome de Sjögren. Au total, 286 échantillons de patients présentant d'autres maladies ont été intégrés en guise de contrôles. Consulter le Tableau 4 ci-dessous pour découvrir la répartition détaillée des échantillons de contrôles pathologiques. Les échantillons de patients souffrant d'un syndrome secondaire des antiphospholipides (SAPL) ont été exclus des calculs de sensibilité et de spécificité car leur diagnostic primaire est inconnu.

La sensibilité et la spécificité cliniques pour le SS (n=39) et le LES (n=150) séparément et en association ont été calculées. Les résultats sont présentés dans les trois tableaux ci-dessous :

Tableau 1 - Sensibilité et spécificité cliniques du QUANTA Flash Ro60 pour le SS :

Analyse clinique n=310		Diagnostic			Analyse (confiance à 95 %)
		SS	Contrôles (hors LES)	Total	
QUANTA Flash Ro60	Positif	26	7	33	Sensibilité = 66,7 % (49,8 - 80,9 %)
	Négatif	13	264	277	Spécificité = 97,4 % (94,8 - 99,0 %)
	Total	39	271	310	

Tableau 2 - Sensibilité et spécificité cliniques du QUANTA Flash Ro60 pour le LES :

Analyse clinique n=421		Diagnostic			Analyse (confiance à 95 %)
		LES	Contrôles (hors SS)	Total	
QUANTA Flash Ro60	Positif	36	7	43	Sensibilité = 24,0 % (17,4 - 31,6 %)
	Négatif	114	264	378	Spécificité = 97,4 % (94,8 - 99,0 %)
	Total	150	271	421	

Tableau 3 - Sensibilité et spécificité cliniques du QUANTA Flash Ro60 pour le SS et le LES :

Analyse clinique n=460		Diagnostic			Analyse (confiance à 95 %)
		SS ou LES	Contrôles	Total	
QUANTA Flash Ro60	Positif	62	7	69	Sensibilité = 32,8 % (26,2 - 40,0 %)
	Négatif	127	264	391	Spécificité = 97,4 % (94,8 - 99,0 %)
	Total	189	271	460	

Tableau 4 - Répartition du groupe de contrôles pathologiques utilisée dans l'étude de validation :

Groupe de patients	N	Nombre de positifs	% positif
Maladie de Grave	10	0	0.0%
Thyroïdite de Hashimoto	10	0	0.0%
Maladie coéliquie	11	0	0.0%

Groupe de patients	N	Nombre de positifs	% positif
Maladie de Crohn	20	1	5.0%
Rectocolite ulcéro-hémorragique	20	0	0.0%
VHC	9	0	0.0%
VHB	9	0	0.0%
VIH	5	0	0.0%
Syphilis	10	0	0.0%
Arthrose	20	1	5.0%
Syndrome primaire des antiphospholipides	15	1	6.7%
Syndrome secondaire des antiphospholipides*	15	4	26.7%
Autres maladies rhumatismales	38	1	2.6%
Vascularite	1	0	0.0%
Sclérodémie généralisée	48	1	2.1%
Myosite auto-immune	1	0	0.0%
Polyarthrite rhumatoïde	20	1	5.0%
Hépatite auto-immune**	24	1	4.2%
Total de contrôles	286	11	3.8%

* Patients souffrant potentiellement d'un LES

** Échantillons contenant des anticorps spécifiques d'une maladie du foie auto-immune (SLA, actine F, M2)

Comparaison des méthodes avec dispositif de référence

L'analyse de comparaison des méthodes comportait 143 échantillons de patients souffrant d'un SS et d'un LES, ainsi que des contrôles pathologiques applicables. Aucun contrôle sain n'a été intégré à ce groupe. Ces échantillons ont été testés avec le test QUANTA Flash Ro60 et le test ELISA de prédiction. Le test ELISA de prédiction présentait une plage équivoque spécifiée. Les résultats sont présentés de deux façons : avec les échantillons équivoques en ELISA en tant que négatifs dans le tableau 5, puis en tant que positifs dans le tableau 6.

Tableau 5

Comparaison des méthodes (N=143) Résultats ELISA équivoques en tant que négatifs		Ro60 ELISA			Pourcentage de concordance (confiance à 95 %)
		Négatif	Positif	Total	
QUANTA Flash Ro60 CIA	Négatif	93	3	96	Concordance pos. = 93,5 % (82,1 - 98,6 %)
	Positif	4	43	47	Concordance nég. = 95,9 % (89,8 - 98,9 %)
	Total	97	46	143	Concordance générale = 95,1 % (90,2 - 98,0 %)

Tableau 6

Comparaison des méthodes (N=143) Résultats ELISA équivoques en tant que positifs		Ro60 ELISA			Pourcentage de concordance (confiance à 95 %)
		Négatif	Positif	Total	
QUANTA Flash Ro60 CIA	Négatif	87	9	96	Concordance pos. = 82,7 % (69,7 - 91,8 %)
	Positif	4	43	47	Concordance nég. = 95,6 % (89,1 - 98,8 %)
	Total	91	52	143	Concordance générale = 90,9 % (85,0 - 95,1 %)

Précision et reproductibilité

En termes de précision, la performance du test QUANTA Flash Ro60 a été évaluée en analysant 10 échantillons de sérum conformément au document EP5-A2 du CLSI, Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Procedures - Approved Guideline: en double, deux fois par jour, pendant 21 jours. La précision intra-analyse, inter-analyses, d'un jour à l'autre et totale a été calculée et récapitulée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 7

			Intra-analyse		Inter-analyses		D'un jour à l'autre		Total	
Échantill	N	Moyenne	Écart	CV	Écart	CV	Écart	CV	Écart	CV
1	84	11.5	0.6	5.0	0.0	0.0	0.5	4.5	0.8	6.8
2	84	16.7	0.9	5.4	0.8	4.8	0.7	4.4	1.4	8.4
3	84	20.7	1.4	6.9	0.0	0.0	0.9	4.3	1.7	8.1
4	84	25.7	0.9	3.4	0.8	3.3	1.0	4.0	1.6	6.2
5	84	26.4	0.8	3.1	0.6	2.4	0.5	1.9	1.1	4.4
6	84	142.1	7.7	5.4	4.5	3.1	6.2	4.3	10.8	7.6
7	84	406.3	26.6	6.6	0.0	0.0	21.2	5.2	34.0	8.4
8	84	807.5	25.9	3.2	20.3	2.5	18.6	2.3	37.8	4.7
9	84	1181.0	45.3	3.8	49.2	4.2	30.6	2.6	73.6	6.2
10	84	1246.3	67.9	5.4	35.3	2.8	60.8	4.9	97.7	7.8

Plage de mesure analytique

La limite de détection de ce test est de 519 RLU, soit moins que la plage de mesure analytique du dosage (4,9 CU). Cette limite a été déterminée en accord avec la recommandation EP17-A2 du CLSI, avec une proportion de faux positifs (alpha) inférieure à 5 % et de faux négatifs (bêta) inférieure à 5 %, d'après la réalisation de 120 dosages, avec 60 mesures sur des blancs et 60 mesures sur des échantillons à faible concentration, avec deux lots de réactifs. La limite de détection est de 452 RLU.

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). Trois échantillons de sérum présentant diverses concentrations d'anticorps anti-Ro60 ont été dilués en série pour obtenir 10 dilutions de chaque échantillon ; ces dilutions ont ensuite été testées avec QUANTA Flash Ro60. Elles s'étendaient sur toute la plage de mesure analytique du test. Les taux d'anticorps obtenus ont été reportés sur un graphique par rapport aux taux prévus. Ces trois échantillons ont présenté une linéarité de dilution individuelle et ont produit les résultats suivants avec la régression linéaire :

Tableau 8

Échantillon	Plage de test (CU)	Pente (IC à 95 %)	R ²
1	148,3 à 1372,2	1,05 (1,02 à 1,08)	1.00
2	15,3 à 178,6	1,00 (0,96 à 1,04)	0.99
3	7,5 à 45,6	1,04 (1,00 à 1,08)	0.99

Échantillon	Plage de mesure analytique	Pente (IC à 95 %)	R ²
Tous	4,9 à 1374,8	1,07 (1,06 à 1,08)	1.00

QUANTA Flash[®] Ro60

Calibrators

Pour usage diagnostique *In Vitro*. Complexité de CLIA: Modéré

REF

701146

Rx Only

Utilisation prévue

Les QUANTA Flash Ro60 Calibrators sont conçus pour une utilisation avec les QUANTA Flash Ro60 Reagents, dans le cadre du dosage des auto-anticorps IgG anti-Ro60 dans du 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 du test

L'immunodosage par chimiluminescence (CIA) QUANTA Flash Ro60 utilise une courbe maîtresse prédéfinie spécifique au lot, stockée dans le code-barres de la cartouche de réactifs. Les QUANTA Flash Ro60 Calibrators 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 Ro60. Avant l'affectation de valeurs, les étalons sont testés sur plusieurs appareils, avec plusieurs lots de réactifs.

Réactifs

1. QUANTA Flash Ro60 Calibrator 1 : deux (2) tubes à code-barres contenant 0,3 mL de réactif prédilué, prêt à l'emploi. Étalons contenant des anticorps humains anti-Ro60 dans des stabilisateurs et des conservateurs.
2. QUANTA Flash Ro60 Calibrator 2 : deux (2) tubes à code-barres contenant 0,3 mL de réactif prédilué, prêt à l'emploi. Étalons contenant des anticorps humains anti-Ro60 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 QUANTA Flash Ro60 Calibrators doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.¹³
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 réglementations environnementales locales, nationales et internationales en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est destiné à un usage diagnostique *in vitro*.
2. Les QUANTA Flash Ro60 Calibrators sont conçus pour être utilisés avec le test QUANTA Flash Ro60

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 jusqu'à 8 heures 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 inadaptés de l'appareil. Les résidus de produits chimiques courants en laboratoire, tels que le formol, l'eau de Javel, l'éthanol ou les détergents, 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 les placer tous les deux 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 par 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 Ro60 (vendus séparément sous la référence 701147) 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-Ro60.

Les sérums de référence IS2105 ANA #7 et IS2074 ANA #3 du CDC (Center of Disease Control and Prevention) ont été testés ; leur concentration respective était >1374,8 CU et 920,0 CU.

Limites

Ces étalons sont conçus pour 4 étalonnages. Le temps total pendant lequel les tubes d'étalons peuvent rester sans capuchon à l'intérieur du système ne doit pas dépasser 8 heures. Au-delà, ils doivent être éliminés. L'utilisation du même tube d'étalon pendant plus de 8 heures peut entraîner un mauvais étalonnage du test et donc fournir des résultats erronés.

Controls

Pour usage diagnostique *In Vitro*. Complexité de CLIA: Modéré

REF

701147

Rx Only

Utilisation prévue

Les QUANTA Flash Ro60 Controls sont conçus pour une utilisation avec les QUANTA Flash Ro60 Reagents, dans le cadre du contrôle qualité du dosage des auto-anticorps IgG anti-Ro60 dans le sérum humain.

Résumé et principes du test

Les QUANTA Flash Ro60 Controls se composent d'un contrôle négatif et d'un contrôle positif. Chacun contient une quantité différente d'anticorps anti-Ro60. Les contrôles négatif et positif sont utilisés pour surveiller les performances analytiques du test CIA QUANTA Flash Ro60.

Réactifs

1. QUANTA Flash Ro60 Negative Control: deux (2) tubes à code-barres contenant 0,5 mL de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps humains anti-Ro60 dans des stabilisateurs et des conservateurs.
2. QUANTA Flash Ro60 Positive Control : deux (2) tubes à code-barres contenant 0,5 mL de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps humains anti-Ro60 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 Ro60 doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.¹³
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 réglementations environnementales locales, nationales et internationales en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est destiné à un usage diagnostique *in vitro*.
2. Les QUANTA Flash Ro60 Controls sont conçus pour être utilisés avec le test QUANTA Flash Ro60
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 inadaptés de l'appareil. Les résidus de produits chimiques courants en laboratoire, tels que le formol, l'eau de Javel, l'éthanol ou les détergents, 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 ouverts peuvent être utilisés jusqu'à 15 fois, avec une durée moyenne à bord de l'instrument de 10 minutes par utilisation. Le temps total pendant lequel les tubes de contrôles peuvent rester sans capuchon à l'intérieur 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 matériels CQ pour le test Ro60 :

1. Avant d'utiliser des QUANTA Flash Ro60 Controls 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. Commencer par saisir le nom, le numéro de lot et la date de péremption figurant sur la fiche dans le logiciel. Ensuite, cliquer sur le bouton **Add Assay**. À l'écran suivant, vérifier que la case **Show All Assays** est cochée. Sélectionner le test Ro60 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 matériels CQ existants :

1. Avant d'utiliser un nouveau lot de QUANTA Flash Ro60 Controls 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 Ro60 en surbrillance dans la colonne de gauche. Ensuite, mettre le matériel de contrôle approprié en surbrillance à droite (« Ro60N » pour le contrôle négatif ou « Ro60P » 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 Ro60 dans la liste, puis cliquer sur **Add**. Cliquer sur **Save**. Effectuer cette procédure pour les deux contrôles.

Il est recommandé d'utiliser les QUANTA Flash Ro60 Controls une fois par jour où le test est utilisé.

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 les placer tous les deux 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 contrôle, 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 par 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-Ro60.

Les sérums de référence IS2105 ANA #7 et IS2074 ANA #3 du CDC (Center of Disease Control and Prevention) ont été testés ; leur concentration respective était >1374,8 CU et 920,0 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 contrôles peuvent rester sans capuchon à l'intérieur de l'appareil ne doit pas dépasser 2 heures et 30 minutes. Au-delà, ils doivent être éliminés.

Bibliographie

1. 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.
2. Egner W. **The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE.** *J Clin Pathol.* 2000, **53(6)**:424-432.
3. Alspaugh MA, N Talal, and EM Tan. **Differentiation and characterization of autoantibodies and their antigens in Sjögren's syndrome.** *Arthritis Rheum.* 1976, **19**:216-222.
4. Alexander EL, Hirsch TJ, Arnett FC, Provost TT, Stevens MB: **Ro(SS-A) and La(SS-B) antibodies in the clinical spectrum of Sjögren's Syndrome.** *J Rheumatology* 1982, **9**: 239-246.
5. Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M. **Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system.** *Autoimmun Rev.* 2009, **8(7)**:632-637.
6. Sánchez-Guerrero J, Lew RA, Fossel AH, Schur PH. **Utility of anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro/SS-A, and anti-La/SS-B (extractable nuclear antigens) detected by enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of systemic lupus erythematosus.** *Arthritis Rheum.* 1996, **39(6)**:1055-1061.
7. Moutsopoulos HM, Zerva LV. Anti-Ro (SSA)/La (SSB) antibodies and Sjögren's syndrome. *Clin Rheumatol.* 1990 Mar;**9**(1 Suppl 1):123-30.
8. Maddison PJ, Provost TT and Reichlin M: **Serological findings in patients with "ANA negative" systemic lupus erythematosus.** *Medicine* 1981, **60**: 87-93.
9. Shiboski SC, Shiboski CH, Criswell LA, Baer AN, Challacombe S, Lanfranchi H, Schiødt M, Umehara H, Vivino F, Zhao Y, Dong Y, Greenspan D, Heidenreich AM, Helin P, Kirkham B, Kitagawa K, Larkin G, Li M, Lietman T, Lindegaard J, McNamara N, Sack K, Shirlaw P, Sugai S, Vollenweider C, Whitcher J, Wu A, Zhang S, Zhang W, Greenspan JS, Daniels TE for the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance (SICCA) Research Groups: **American College of Rheumatology Classification Criteria for Sjögren's Syndrome: A Data-Driven, Expert Consensus Approach in the Sjögren's International Collaborative Clinical Alliance Cohort.** *American College of Rheumatology* 2012, **64(4)**: 475-487.
10. Kephart DC, Hood AF, Provost TT: **Neonatal lupus erythematosus: New serological findings.** *J Invest Derm* 1981, **77**: 331-333.
11. Friedman DM, Rupel A, Buyon JP. **Epidemiology, etiology, detection, and treatment of autoantibody-associated congenital heart block in neonatal lupus.** *Curr Rheumatol Rep.* 2007, **9(2)**:101-108.
12. Buyon JP. **Neonatal lupus: bedside to bench and back.** *Scand J Rheumatol.* 1996, **25(5)**:271-276.
13. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition.** Centers for Disease Control/National Institute of Health, 2009.

Symboles utilisés

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

QUANTA Flash est une marque déposée d'Inova Diagnostics Inc. BIO-FLASH est une marque déposée de Biokit S.A. © 2018

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

Australian Sponsor:

Werfen Australia Pty Ltd
59-61 Dickson Avenue
Artarmon NSW 2064 Australia
Tel. +61 2 9098 0200 / 1300 369 132
<http://au.werfen.com/>

Représentant européen agréé :

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

621145FR

Septembre 2018
Révision 3

