

QUANTA Flash® DGP IgA Reagents



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

REF

701168

Rx Only

Utilisation prévue

Le QUANTA Flash DGP IgA est un test CIA (immunodosage par chimiluminescence) pour la détermination semi-quantitative des anticorps IgA anti-peptides de gliadine désamidés (DGP) dans le sérum humain. La présence de ces anticorps IgA anti-DGP peut être utilisée en association avec des résultats cliniques et d'autres tests de laboratoire pour faciliter le diagnostic des entéropathies liées à une intolérance au gluten : maladie cœliaque et dermatite herpétiforme.

Résumé et explication du test

La maladie cœliaque, ou entéropathie sensible au gluten, se caractérise par l'inflammation et l'aplatissement histologique caractéristique de la muqueuse intestinale, entraînant un syndrome de malabsorption. L'étiologie exacte de cette maladie reste inconnue, mais la gliadine, c'est-à-dire la fraction soluble dans l'alcool du gluten, est de façon certaine l'agent toxique.^{1,2}

À l'origine, une série de plusieurs biopsies intestinales servaient à diagnostiquer la maladie cœliaque et les troubles liés. Plus récemment, la Société européenne de gastro-entérologie et de nutrition pédiatrique (ESPGHAN)³ et plusieurs études publiées⁴⁻⁶ ont recommandé l'utilisation de marqueurs sérologiques, comme les anticorps anti-transglutaminase tissulaire (TGt), anti-endomysium (EMA), anti-gliadine et anti-DGP, pour réduire le nombre de biopsies intestinales nécessaires au diagnostic.

Un travail récent a révélé que les anticorps de patients atteints d'une maladie cœliaque se liaient à un nombre très limité d'épitopes spécifiques de la molécule de gliadine ayant été désamidés sélectivement.⁷⁻⁹ On pense que cette désamidation est due à l'enzyme associée au cœliaque, la transglutaminase tissulaire.¹⁰ Sur la base de ces observations, des tests utilisant des peptides désamidés et délimités ont été développés. Dans le cas de la maladie cœliaque, ils se sont révélés d'une meilleure précision diagnostique que les tests standard anti-gliadine.^{5,11-14}

Pour un dépistage sensible, il est recommandé de rechercher les deux anticorps anti-peptides désamidés de la gliadine (IgA et IgG), puisqu'une proportion non négligeable de patients sont déficients en IgA.¹² Plusieurs études ont démontré l'utilité clinique de ces stratégies de dépistage.^{15,11-14}

La dermatite herpétiforme (DH) est une pathologie cutanée chronique formant des cloques. La majorité des patients atteints de dermatite herpétiforme présentent une sensibilité au gluten et une atrophie villositaire jéjunale identique à celle observée dans la maladie cœliaque ; un régime strict sans gluten améliore les lésions cutanées et intestinales.^{16,17} Les performances des méthodes sérologiques actuelles, telles que les tests EMA et anti-tTG, sont décevantes lors du test de la DH, avec des sensibilités allant seulement de 45 à 75 %¹⁶⁻¹⁸ comparé à des sensibilités de 95 % et supérieures, reportées pour la maladie cœliaque. Une étude a toutefois démontré que les anticorps anti-DGP sont plus fréquents que les anticorps anti-tTG chez les patients atteints de DH.¹⁸

Principes du test

Les peptides désamidés synthétiques de la gliadine sont revêtus sur des billes paramagnétiques stockées dans la cartouche de réactifs, dans des conditions préservant l'antigène dans son état réactif. Lorsque la cartouche est prête à être utilisée pour la première fois, elle est retournée plusieurs fois afin de bien mélanger les réactifs. Elle est ensuite chargée sur l'appareil BIO-FLASH®.

L'appareil dilue un échantillon de sérum patient au 1/17e à l'aide du rinçage du système ajouté à une cuvette en plastique jetable. De petites quantités de sérum patient dilué, les billes de DGP 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 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-DGP liée au DGP sur les billes.

Le test QUANTA Flash DGP IgA 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 DGP IgA Reagent Cartridge contient les réactifs suivants pour 50 déterminations :
 - a. Billes paramagnétiques revêtues de DGP dans du tampon contenant des stabilisateurs de protéines et un conservateur.
 - b. Assay buffer : de couleur rose, contenant une solution saline tamponnée Tris, du Tween 20, des stabilisants de protéines et des conservateurs.
 - c. Tracer IgA: anticorps IgA antihumains marqués à l'isoluminol dans un tampon contenant des stabilisateurs de protéines et un conservateur.

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 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.
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 réglementations environnementales locales, nationales et internationales 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. 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.
4. 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 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 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 réactif (lors du stockage). Le système n'autorisera pas l'utilisation d'une cartouche si sa date de péremption est dépassée.

Prélèvement, préparation et manipulation des échantillons

Ce test doit être réalisé avec des échantillons de sérum. Les échantillons ayant subi une contamination microbienne, thermotraités ou contenant des particules visibles ne doivent pas être utilisés. Les sérums grossièrement hémolysés ou ictériques sont à éviter. Suite au 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.

Mode opératoire

Matériel fourni

1 QUANTA Flash DGP IgA Reagent Cartridge

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 DGP IgA Calibrators (réf. : 701166)

QUANTA Flash DGP IgA Controls (réf. : 701167)

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'InovaDiagnostics, 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**.

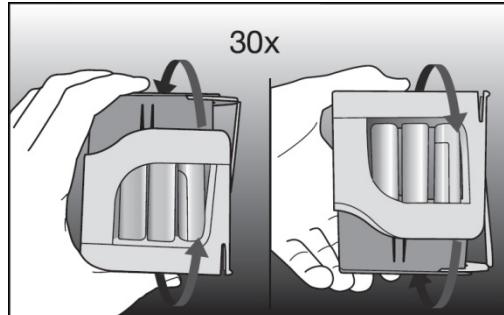
Méthode

Préparation de la cartouche de réactifs

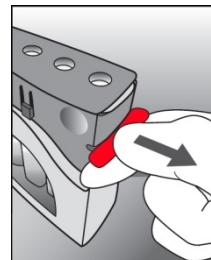
Lors de la première utilisation de la cartouche de réactifs, suivre les instructions suivantes pour l'installer correctement dans l'appareil BIO-FLASH. Remarque : ne pas utiliser la cartouche de réactifs en cas de détérioration visible.

Cartouche de réactifs QUANTA Flash DGP IgA : des microparticules peuvent se déposer lors du transport ou de l'entreposage, agiter le flacon pour les remettre en suspension.

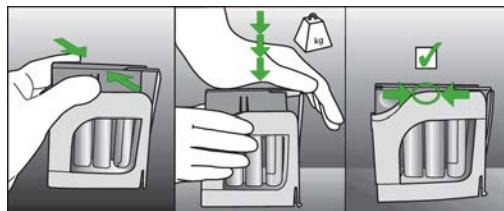
1. Lors de la première utilisation de la cartouche, la retourner délicatement 30 fois en évitant la formation de mousse. Vérifier que les microparticules sont entièrement remises en suspension. Si elles ne le sont pas, continuer de retourner la cartouche. S'il est impossible de remettre les microparticules en suspension, NE PAS UTILISER LA CARTOUCHE.



2. Lorsque les microparticules sont remises en suspension, poser la cartouche de réactifs sur une surface solide pour retirer la languette rouge. 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.



3. 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.



4. 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® DGP IgA Calibrators 701166** 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 DGP IgA 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 **Start F4** apparaît en vert en haut de l'écran. Appuyer sur l'icône **Start F4** pour débuter le test.

Contrôle de la qualité

Les QUANTA Flash DGP IgA Controls (vendus séparément sous la référence Inova 701167) contiennent à la fois des contrôles IgA anti-DGP positifs et négatifs. Se reporter à la section intitulée **QUANTA Flash® DGP IgA Controls 701167** 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 est générée par Inova pour chaque lot de QUANTA Flash DGP IgA. 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 permet de convertir les unités RLU en unités CU. La réactivité des anticorps IgA anti-DGP est classée conformément au tableau ci-dessous.

<u>Réactivité</u>	<u>CU</u>
Négatif	<20
Faiblement positif	20-30
Positif	>30

La réactivité en unités CU est directement liée au titre de l'anticorps présent dans l'échantillon patient. Les augmentations et diminutions de concentrations d'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 5,2 CU à 2367,3 CU, ce qui correspond à la plage linéaire du dosage. Si le résultat d'un patient est inférieur à 5,2 CU, le système BIO-FLASH indique « <5,2 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 2367,3 CU, le système BIO-FLASH indique « >2367,3 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 2367,3 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 2367,3 CU, la valeur la plus élevée pouvant être reportée est donc 23 673 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 DGP IgA. Les valeurs obtenues avec des méthodes de test de fabricants différents ne peuvent être utilisées de façon interchangeable. »

Limites du test

1. Certains patients atteints de maladie cœliaque ou de dermatite herpétiforme ne sont pas positifs aux anticorps IgA anti-DGP. De plus, un résultat IgA anti-DGP négatif chez un patient non traité s'explique souvent par une carence sélective en IgA, une conclusion relativement fréquente en cas de maladie cœliaque. Dans ce cas, Inova propose les kits QUANTA Flash h-tTG IgG et QUANTA Flash DGP IgG.
2. Les résultats de ce test doivent être utilisés conjointement aux résultats cliniques et à d'autres examens sérologiques.
3. Un mélange inappropriate des réactifs avant la première utilisation peut produire des résultats inexacts.
4. Les caractéristiques de performance de ce test n'ont pas été établies pour d'autres matrices que le sérum.

Valeurs attendues

Pour une population normale, le résultat prévu est « négatif ». La prévalence de la maladie cœliaque au sein de la population de référence ne présentant aucun risque avoisine les 1 %¹⁹. Des résultats positifs sont donc parfois attendus lorsque des sujets sains sont testés. Lors de l'analyse d'échantillons de sérum issus de 232 sujets apparemment en bonne santé à l'aide du QUANTA Flash DGP IgA CIA au sein d'Inova Diagnostics, un seul résultat positif et un seul résultat faiblement positif ont été obtenus.

Comparaison des méthodes avec dispositif de référence

Les échantillons utilisés pour l'analyse de comparaison des méthodes comprenaient ceux des études de validation clinique (patients avec maladie cœliaque, sans maladie cœliaque et atteints de dermatite herpétiforme) qui se trouvaient dans la plage de mesure analytique du test. Ces échantillons ont été testés avec le test QUANTA Flash DGP IgA et le test ELISA de prédiction.

Méthode de comparaison (N = 102)	DGP IgA ELISA			Pourcentage de concordance (confiance à 95 %)	
	Positif	Négatif	Total		
QUANTA Flash DGP IgA CIA	Positif	65	3*	68	Concordance pos. = 91,5 % (82,5-96,8 %)
	Négatif	6**	28	34	Concordance nég. = 90,3% (74,2-98,0%)
	Total	71	31	102	Concordance totale = 91,2 % (83,0,9-95,9 %)

* Deux patients étaient suspectés de souffrir d'une maladie cœliaque sans avoir posé de diagnostic, alors qu'un troisième souffrait de dermatite herpétiforme.

** Deux patients souffraient de dermatite herpétiforme. Trois patients étaient atteints d'une maladie cœliaque, deux ne présentaient aucun signe clinique alors qu'un avait subi une biopsie Marsh III. Un patient présentait une rectocolite ulcéro-hémorragique.

Sensibilité et spécificité cliniques

L'étude de validation clinique comprenait 54 échantillons de maladie cœliaque de la bibliothèque de serum d'Inova, 103 contrôles de maladie non cœliaque et 21 échantillons de patients souffrant de maladie non cœliaque. Une autre étude externe comportait 93 échantillons de maladie cœliaque, 151 échantillons de sujets symptomatiques ayant consulté un médecin, mais chez qui une maladie cœliaque a été exclue suite à un examen physique et des tests diagnostiques, et 98 contrôles pathologiques. Tous les échantillons ont été testés avec le kit QUANTA Flash DGP IgA. Les résultats ont été analysés afin de calculer séparément la sensibilité et la spécificité pour la maladie cœliaque (n=147) et la dermatite herpéiforme (n=21).

Sensibilité et spécificité cliniques du QUANTA Flash DGP IgA pour la maladie cœliaque :

N=499		Diagnostic			Analyse (confiance à 95 %)
		Maladie cœliaque	Absence de maladie cœliaque	Total	
QUANTA Flash DGP IgA	Positif	105	0	105	Sensibilité = 71,4 % (63,4-78,6 %)
	Négatif	42*	352	394	Spécificité = 100,0 % (99,0-100 %)
	Total	147	352	499	

* Parmi les 21 patients possédant des données ELISA, 18 étaient négatifs au test EIA IgA anti-DGP. Parmi les 21 patients ne possédant pas de données ELISA, 6 avaient subi une biopsie Marsh III, 4 Marsh II et 11 n'avaient pas de résultat de biopsie.

Sensibilité et spécificité cliniques du QUANTA Flash DGP IgA pour la dermatite herpéiforme :

N=373		Diagnostic			Analyse (confiance à 95 %)
		DH	Absence de DH	Total	
QUANTA Flash DGP IgA	Positif	13	0	13	Sensibilité = 61,9 % (38,4-81,9 %)
	Négatif	8*	352	360	Spécificité = 100,0 % (99,0-100 %)
	Total	21	352	373	

*Six échantillons étaient également négatifs au test EIA IgA anti-DGP.

Répartition de la population de contrôle pathologique utilisée dans l'étude de validation :

Groupe de patients	N	Négatif	Positif	Pourcentage de positifs
Hépatite auto-immune	5	5	0	0 %
Hépatite virale	47	47	0	0 %
Maladie inflammatoire chronique (crohn + rectocolite ulcéro-hémorragique)	17	17	0	0 %
Infection à H pylori	17	17	0	0 %
Allergie alimentaire	9	9	0	0 %
Maladie rhumatoïde systémique	12	12	0	0 %
Maladie thyroïdienne autoimmune	22	22	0	0 %
Patients souffrant de symptômes gastro-intestinaux	11	11	0	0 %
Diabète de type 1	14	14	0	0 %
Polyarthrite rhumatoïde	37	37	0	0 %
Autre pathologie infectieuse (VIH, syphilis)	10	10	0	0 %
Total	201	201	0	0 %

Résumé des valeurs de sensibilité et de spécificité cliniques appliquées à la maladie cœliaque, par tranche d'âge :

Tranche d'âge	DGP IgA	
	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
1 mois - 2 ans	50,0	100,0
2 ans - 12 ans	66,7	100,0
12-21ans	58,3	100,0
>21 ans	77,4	100,0
<21 ans (total)	63,5	100,0
Total	71,4	100,0

Précision et reproductibilité

La répétabilité du dosage QUANTA Flash DGP IgA a été évaluée sur 7 échantillons contenant diverses concentrations d'anticorps IgA anti-DGP, conformément au protocole EP5-A2 du CLSI. Les données sont résumées ci-dessous :

Échantillon	Nombre de répétitions	Moyenne (CU)	Intra-analyse		Entre analyses		Sur plusieurs jours		Total	
			ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)
1	84	105,6	5,4	5,1 %	0,0	0,0 %	6,8	6,4 %	8,6	8,2 %
2	80	35,1	2,1	5,9 %	0,0	0,0 %	3,8	10,7 %	4,3	12,2 %
3	84	15,4	0,9	5,8 %	0,0	0,0 %	1,0	6,2 %	1,3	8,5 %
4	80	32,4	1,0	3,1 %	0,3	0,8 %	2,2	6,8 %	2,4	7,5 %
5	84	128,8	5,9	4,6 %	4,1	3,2 %	8,6	6,7 %	11,2	8,7 %
6	84	10,5	0,4	4,0 %	0,2	1,9 %	0,6	5,8 %	0,8	7,3 %
7	76	1930,8	94,9	4,9 %	63,8	3,3 %	149,7	7,8 %	188,4	9,8 %

En outre, des études de précision ont également été menées sur trois sites d'analyse distincts (Inova Diagnostics, Inc. et deux sites d'analyse externes) afin d'évaluer la reproductibilité. Deux lots de réactifs, deux lots d'étalons et deux opérateurs ont été introduits comme variables sur le site Inova. La reproductibilité totale a été calculée d'après la précision intra-analyse, entre analyses, entre les lots, entre les lots d'étalons, entre les opérateurs et entre les sites :

			Intra-analyse		Entre analyses		Entre lots de réactifs		Entre lots d'étalons		Entre opérateurs		Entre sites		Total	
			Moyenne (CU)	Nombre de répétitions	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)
Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon	Échantillon
Échantillon 1	12,9	80	0,8	6,4	0,7	5,2	0,4	3,1	0,7	5,6	0,8	5,8	1,1	9,1	1,9	14,8
Échantillon 2	25,5	80	1,0	3,8	1,4	5,5	1,1	4,1	1,6	6,3	0,6	2,3	1,8	7,0	3,2	12,6
Échantillon 3	136,8	80	4,0	2,9	8,9	6,5	7,5	5,5	10,4	7,6	4,4	3,2	11,2	8,3	20,1	14,7

Plage de mesure analytique

Conformément au document EP17-A du CLSI, la limite de détection inférieure de ce test se trouve à 730,3 TLU, ce qui est inférieur à la plage de mesure analytique (5,2 CU). L'ensemble de la plage de mesure analytique, qui s'étend de 5,2 CU à 2367,3 CU, est linéaire. Une étude de linéarité a été menée conformément au document EP6-A du CLSI avec six échantillons de sérum à diverses concentrations d'IgA anti-DGP. Ces six échantillons ont présenté une linéarité de dilution individuelle et les données combinées ont produit les résultats suivants avec la régression linéaire :

Échantillon	Plage de test (CU)	Pente (IC à 95 %)	Origine à l'ordonnée (IC à 95 %)	R ²
Tous les échantillons	5,2 à 2596,8	1,05 (1,03 à 1,07)	6,19 (-8,49 à 20,86)	0,99

Avec le test IgA anti-DGP, les échantillons positifs dont les résultats sont supérieurs à la plage de mesure analytique ne présentent aucun effet de crochet jusqu'à 5167,2 CU.

Interférence, réactivité croisée

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.

Deux cent un échantillons de patients présentant diverses maladies auto-immunes et infectieuses ont été testés afin d'étudier la réactivité croisée. Aucun d'eux n'était positif avec le test IgA anti-DGP, ce qui indique l'absence de réactivité croisée.

QUANTA Flash® DGP IgA

Calibrators

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



REF

701166

Rx Only

Utilisation prévue

Les QUANTA Flash DGP IgA Calibrators sont destinés à être utilisés avec le test CIA (immunodosage par chimiluminescence) QUANTA Flash DGP IgA. Chaque étalon établit un point de référence pour la courbe d'étalonnage servant à déterminer les valeurs en unités de chimiluminescence (CU) dans le cadre de la mesure des anticorps IgA anti-DGP dans le sérum.

Résumé et principes du test

Le test CIA QUANTA Flash DGP IgA utilise une courbe maîtresse prédéfinie spécifique au lot, stockée dans le code-barres de la cartouche de réactifs. Les QUANTA Flash DGP IgA 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 DGP IgA. Avant l'affectation de valeurs, les étalons sont testés sur plusieurs appareils et avec plusieurs lots de réactifs.

Réactifs

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

Avertissements

1. L'azoture de sodium sert de 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.
2. 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 DGP IgA Calibrators doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.²⁰
3. Utiliser un équipement de protection personnelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
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 à usage diagnostique *In Vitro*.
2. Les QUANTA Flash DGP IgA Calibrators sont conçus pour être utilisés avec le test QUANTA Flash DGP IgA.
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 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.

Mode opératoire

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 QUANTA Flash DGP IgA Controls (vendus séparément sous la référence 701167) après avoir étalonné un lot de cartouches de réactifs.

Traçabilité

Il n'existe aucune norme internationale reconnue concernant la mesure des anticorps IgA anti-peptides désamidés de la gliadine.

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'étaalon pendant plus de 8 heures peut entraîner un mauvais étalonnage du test et donc fournir des résultats erronés.

QUANTA Flash® DGP IgA

Controls

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



REF

701167

Rx Only

Utilisation prévue

Les QUANTA Flash DGP IgA Controls sont destinés au contrôle qualité du kit CIA (immunodosage par chimiluminescence) QUANTA Flash DGP IgA.

Résumé et principes du test

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

Réactifs

1. QUANTA Flash DGP IgA Negative Control : Deux (2) tubes à code-barres contenant 0,5 mL de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps IgA humains anti-DGP dans un tampon, stabilisateurs de protéine et conservateurs.
2. QUANTA Flash DGP IgA Positive Control : Deux (2) tubes à code-barres contenant 0,5 mL de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps IgA humains anti-DGP dans un tampon, stabilisateurs de protéine et conservateurs.

Avertissements

1. L'azoture de sodium sert de 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.
2. 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 QUANTA Flash DGP IgA Controls doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.²⁰
3. Utiliser un équipement de protection personnelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
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 pour un usage diagnostique *In Vitro*.
2. Les QUANTA Flash DGP IgA Controls sont conçus pour être utilisés avec le test QUANTA Flash DGP IgA.
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 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 sont conçus pour 15 utilisations, avec une durée moyenne de 10 minutes par utilisation à l'intérieur de l'appareil. 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.

Mode opératoire

Créer de nouveaux matériels CQ pour le test DGP IgA :

1. Avant d'utiliser un nouveau lot de QUANTA Flash DGP IgA 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 DGP_IgA 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 DGP IgA 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 **QC Ctrl-F2**. Mettre le dosage DGP_IgA en surbrillance dans la colonne de gauche. Ensuite, mettre le matériau de contrôle approprié en surbrillance à droite (« DGPAN » pour le contrôle négatif ou « DGPA » 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 DGP_IgA dans la liste, puis cliquer sur **Add**. Cliquer sur **Save**. Effectuer cette procédure pour les deux contrôles.

Il est recommandé d'utiliser les s QUANTA Flash DGP IgA Controls 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 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 de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH.

Traçabilité

Il n'existe aucune norme internationale reconnue concernant la mesure des anticorps IgA anti-peptides désamidés de la gliadine.

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. Trier JS: **Celiac Sprue.** *New England Journal of Medicine* 1991, **325**:1709-1719.
2. Troncone R and Ferguson A: **Antigliadin antibodies.** *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991, **12**:150-158.
3. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, Troncone R, Giersiepen K, Branski D, Catassi C, Legeza M, Mäki M, Ribes-Koninckx C, Ventura A, Zimmer KP; ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis; ESPGHAN Gastroenterology Committee; European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. **European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease.** *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012, **54**:136-60.
4. McMillan SA, Haughton DJ, et al.: **Predictive value for coeliac disease of antibodies to gliadin, endomysium and jejunum in patients attending for jejunal biopsy.** *BMJ* 1991, **303**:1163-1165.
5. Sugai E, Moreno ML et al: **Celiac disease serology in patients with different pre-test probabilities: Is biopsy avoidable?** *World J Gastroenterol* 2010, **16**:3144-52.
6. Burgin-Wolff A, Gaze H, et al.: **Antigliadin and antiendomysium antibody determination for coeliac disease.** *Arch Dis Child* 1991, **66**:941-947.
7. Osman AA, et al.: **B-Cell epitopes of gliadin.** *Clin Exp Immunol* 2000, **121**:248-254.
8. Aleanzi M, et al.: **Celiac disease: Antibody recognition against native and selectively deamidated gliadin peptides.** *Clinical Chemistry* 2001, **47**:2023-2028.
9. Schwertz E, et al.: **Serologic assay based on gliadin-related nonapeptides as a highly sensitive and specific diagnostic aid in celiac disease.** *Clinical Chemistry* 2004, **50**:2370-2375.
10. Fleckenstein B, Qiao S-W, et al: **Molecular characterization of covalent complexes between tissue transglutaminase and gliadin peptides.** *J Biol Chem* 2004, **279**:17607-16.
11. Prince HE: **Evaluations of the INOVA Diagnostics Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Kits for Measuring Serum Immunoglobulins G (IgG) and IgA to Deamidated Gliadin Peptides.** *Clinical and Vaccine Immunology* 2006, **13**:150-151.
12. Sugai E, et al.: **Accuracy of Testing Antibodies to Synthetic Gliadin-Related Peptides in Celiac Disease.** *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2006, **4**:1112-1117.
13. Kurppa K, Lindfors K, et al: **Antibodies against deamidated gliadin peptides in early stage celiac disease.** *J Clin Gastroenterol* 2010 (epub ahead of print).
14. Volta U, Granito A, et al: **Deamidated gliadin peptide antibodies as a routine test for celiac disease.** *J Clin Gastroenterol* 2010, **44**:186-90.
15. Collin P, et al.: **Selective IgA deficiency and coeliac disease.** *Scand Journal Gastroenterology* 1992, **27**:367-371.
16. Smecoul E, et al.: **Permeability, Zonulin Production, and Enteropathy in Dermatitis Herpetiformis.** *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 2005, **3**:335-341.
17. Beutner EH, et al.: **Sensitivity and Specificity of IgA-class anti-endomysial antibodies for dermatitis herpetiformis and findings relevant to their pathogenic significance.** *Journal of the American Academy of Dermatology* 1986, **15**:464-473.
18. Jaskowski TD, Donaldson MR et al: **Novel screening assay performance in pediatric celiac disease and adult dermatitis herpetiformis.** *JPGN* 2010, **51**:19-23.
19. Fasano A, Berti I, et al: **Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study.** *Arch Intern Med* 2003, **163**:286-92.
20. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.** Centers for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, 2009, Fifth Edition.

Symboles utilisés

IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>In Vitro</i>		Fabricant
CE	Conformité aux normes européennes		Représentant autorisé
Rx Only	Sur ordonnance uniquement, conformément aux dispositions de la FDA.		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
LOT	Code du lot		Carton en papier recyclable
REF	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

621165FR

Mai 2018

Révision 8

