

Reagents

Pour usage diagnostique *in vitro*. Complexité CLIA : modérée

RÉF **701178, 701175**

Rx Only

Utilisation prévue

QUANTA Flash dsDNA est un dosage immunologique par chimiluminescence pour la mesure quantitative des anticorps IgG anti-acide désoxyribonucléique double brin (ADNdb ou dsDNA en anglais) dans le sérum humain. La présence de ces anticorps anti-ADNdb peut être utilisée en association avec des résultats cliniques et d'autres tests de laboratoire pour faciliter le diagnostic du lupus érythémateux disséminé.

Résumé et explication du test

Les autoanticorps anti-ADN reconnaissent les formes d'ADN à simple brin (sb) ou à double brin (db). Les autoanticorps anti-ADNsb ne sont pas spécifiques à une maladie, mais plutôt associés à divers troubles autoimmuns, notamment : le lupus érythémateux disséminé médicamenteux, la connectivite mixte, la polyarthrite rhumatoïde, la sclérodermie et le syndrome de Sjögren.^{1,2}

En revanche, les anticorps anti-ADNdb sont très spécifiques au lupus érythémateux disséminé (LED)²⁻⁴ et leur prévalence parmi les sujets atteints varie de 40 % à 80 %. La présence d'anticorps anti-ADNdb constitue l'un des 11 critères de classification du LED, d'après la définition de l'American College of Rheumatology.^{5,6} Ils sont absents du LED médicamenteux et ne sont pas non plus associés aux formes subaiguës ou discoïdes du lupus.

Les anticorps anti-ADNdb, ainsi que les anticorps anti-chromatine, créent le motif de coloration nucléaire homogène caractéristique dans les analyses par immunofluorescence indirecte (IFI) des anticorps antinucléaires (ANA). La meilleure méthode de détection des anticorps anti-ADNdb reste controversée.⁷⁻⁹ Les techniques les plus utilisées sont le test ELISA ADNdb,¹⁰ l'immunofluorescence indirecte sur *Crithidia luciliae* (IFCL),¹¹ ou les dosages de Farr par immunoprécipitation¹². La valeur prédictive varie en fonction du type de test.⁹ La technologie ELISA domine la pratique des analyses de laboratoire traditionnelles, mais tend à produire davantage de faux positifs et de vrais positifs faibles, ce qui peut réduire la valeur prédictive du test, alors que le test de Farr est très spécifique mais détecte également des anticorps de tous les isotypes. Les anticorps anti-ADNdb de haute affinité peuvent être plus adaptés à la pathogénèse du LED, notamment dans les cas de néphropathies. Les anticorps de faible affinité ne sont pas détectés par le test de Farr, mais on pense qu'ils le sont avec le test ELISA.^{8,9}

La quantification des anticorps anti-ADNdb est utile dans la prise en charge clinique des patients atteints de LED. Plusieurs études ont mis en évidence une relation étroite entre le titre des anticorps et l'activité pathologique, notamment dans le cas de la néphrite lupique.^{13,14}

Principes du test

L'ADNdb synthétique est revêtu sur des billes paramagnétiques, stockées sous forme de suspension dans la cartouche de réactifs. Lorsque la cartouche est prête à être utilisée pour la première fois, elle est retournée plusieurs fois afin de bien mélanger les réactifs. La cartouche de réactifs est ensuite chargée sur l'appareil BIO-FLASH.

L'appareil dilue un échantillon de sérum patient au 10e dans une cuvette en plastique jetable. De petites quantités de sérum patient dilué, les billes d'ADNdb et le tampon de dosage sont tous placés dans une seconde cuvette, puis mélangés. Cette cuvette est alors incubée à 37°C. Les billes sont ensuite magnétisées et lavées à plusieurs reprises. 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 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-ADNdb liés à l'ADNdb sur les billes.

Pour la quantification des anticorps anti-ADNdb, le test QUANTA Flash dsDNA 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. La courbe maîtresse est créée pendant la fabrication en utilisant des normes internes inspirées de la Première préparation internationale d'étaillon pour l'ADNdb (code OMS : Wo/80). D'après la courbe maîtresse et les résultats obtenus par l'analyse de deux étalons, une courbe d'étalonnage spécifique à l'appareil est créée et sert à calculer les unités internationales (UI)/mL à partir des RLU obtenues pour chaque échantillon.

Réactifs

1. La cartouche de réactifs QUANTA Flash dsDNA contient les réactifs suivants pour 50 dosages (701178) ou 100 dosages (701175) :
 - a. Billes paramagnétiques revêtues d'ADNdb dans du tampon contenant des stabilisateurs de protéines et un conservateur.
 - b. Tampon de dosage, contenant des stabilisateurs de protéines et des conservateurs.
 - c. IgG marqueur, anticorps IgG anti-humaine marqué à l'isoluminol, placé dans une solution tampon, contenant des stabilisateurs de protéines et un conservateur.

Avertissements

1. L'azoture de sodium est utilisé comme conservateur. Cette substance peut réagir avec les canalisations en plomb ou en cuivre pour former des azotures métalliques potentiellement explosifs. Rincer les évier(s) (si elles sont utilisées pour éliminer le réactif) avec de grands volumes d'eau pour éviter l'accumulation d'azoture.
2. Utiliser un équipement de protection personnelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
3. Les éclaboussures de réactifs doivent être nettoyées immédiatement. Respecter toutes les législations environnementales nationales et locales relatives à l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est à 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 déversements de réactifs la première fois que la cartouche de réactifs est placée dans l'appareil.
4. La contamination par produit chimique des réactifs 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 lorsqu'ils sont conservés et manipulés conformément aux instructions.

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 des échantillons

Ce test doit être réalisé avec 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, 1 000 mg/dL de triglycérides, 224 mg/dL de cholestérol ou 947 UI/mL de facteur rhumatoïde IgM n'ont produit aucune interférence avec le QUANTA Flash dsDNA.

Suite au 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 10 jours entre 2 et 8 °C.
3. Si le test n'est pas effectué dans les 10 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

Matériel fourni

- 1 Cartouche de réactifs QUANTA Flash dsDNA

Matériel supplémentaire requis mais non fourni

Appareil BIO-FLASH avec ordinateur

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

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

Cuvettes BIO-FLASH Cuvettes (réf. : 3000-8206)

Étalons QUANTA Flash dsDNA Calibrators (réf. : 701176)

Contrôles QUANTA Flash dsDNA Controls (réf. : 701177)

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 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**.

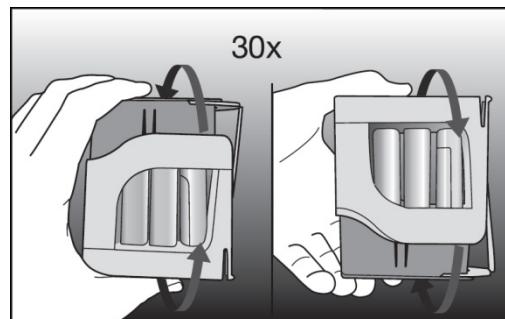
Méthode

Préparation de la cartouche de réactifs

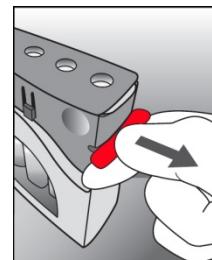
Lors de la première utilisation de la cartouche de réactifs, respecter les instructions suivantes pour l'installer correctement dans l'appareil BIO-FLASH. Remarque : ne pas utiliser la cartouche de réactifs en cas de détérioration visible.

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

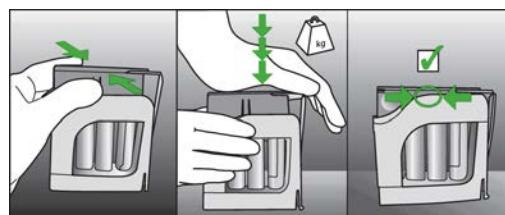
1. Lors de la première utilisation de la cartouche, la retourner délicatement 30 fois en évitant la formation de mousse. Vérifier que les microparticules sont entièrement remises en suspension. Si elles ne le sont pas, continuer de retourner la cartouche. S'il est impossible de remettre les microparticules 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 dessus 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 un créneau ouvert du carrousel de réactifs de l'appareil BIO-FLASH. Une fois la cartouche placée dans le carrousel de réactifs, l'appareil effectue un mélange régulier supplémentaire des billes.

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 **Étalons QUANTA Flash® dsDNA Calibrators 701176** 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 dsDNA 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 de démarrage pour débuter le test.

Contrôle de qualité

Les contrôles QUANTA Flash dsDNA Controls (vendus séparément sous la référence 701177) contiennent des contrôles d'ADNdb à seuils de sensibilité faible et élevé dsDNA Low and High Controls. Se reporter à la section intitulée **QUANTA Flash® dsDNA Controls 701177** 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 sept points est générée par Inova pour chaque lot de QUANTA Flash dsDNA. 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 UI/mL. La réactivité des anticorps anti-ADNdb peut ensuite être classée selon le tableau ci-dessous.

Réactivité	UI/mL
Négatif	< 27
Indéterminée	27-35
Positif	> 35

La réactivité en UI/mL est directement liée au titre de l'autoanticorps présent dans l'échantillon patient. Les augmentations et diminutions de concentrations d'autoanticorps patients sont reflétées par les hausses et baisses correspondantes en UI/mL, qui sont proportionnelles à la quantité d'anticorps.

Si un résultat se situe dans la plage indéterminée, cela signifie que la probabilité de SLE est faible mais qu'elle reste plus élevée qu'au sein d'une population normale. Parmi les 644 patients souffrant d'un LED et ayant participé à la phase de validation des études, 41 (6,4 %) ont donné des résultats situés dans la plage indéterminée. La fréquence des résultats anti-ADNdb indéterminés au sein d'une population normale ($n = 300$) était de 2,0 %. Comme documenté par plusieurs études, il existe une étroite relation entre le titre d'anticorps et l'activité de la maladie, notamment en cas de néphrite lupique,^{13,14}, des résultats anti-ADNdb indéterminés étant plus susceptibles de se produire en cas de maladie inactive par rapport au LED nouvellement diagnostiquée.

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 9,8 à 666,9 UI/mL, ce qui correspond à la plage linéaire du dosage. Si le résultat d'un patient est inférieur à 9,8 UI/mL, le système BIO-FLASH indique « <9,8 UI/mL ». Dans la mesure où cette valeur est inférieure à 27 UI/mL, elle est considérée comme négative. Si le résultat d'un patient est supérieur à 666,9 UI/mL, le système BIO-FLASH indique « >666,9 UI/mL ». Ce résultat est considéré comme positif. Le logiciel BIO-FLASH possède une option de réexécution automatique. Si cette option est choisie, l'appareil recommande automatiquement le dosage d'un échantillon dont le résultat est supérieur à 666,9 UI/mL, après avoir

décuplé la dilution pour que la valeur mesurée figure dans la plage de mesure analytique. Le résultat final est calculé par le logiciel en tenant compte du facteur de dilution supplémentaire. La valeur la plus élevée pouvant être mesurée est 666,9 UI/mL, la valeur la plus élevée pouvant être reportée est donc 6669 UI/mL.

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 dsDNA. Les valeurs obtenues avec des méthodes de test de fabricants différents ne peuvent être utilisées de façon interchangeable. »

Limites du test

1. Cette trousse sert uniquement d'aide au diagnostic. Un résultat positif indique la présence potentielle du LED et doit être confirmé par des résultats cliniques et d'autres tests diagnostiques.
2. Les résultats obtenus par ce test ne constituent pas une preuve diagnostique de la présence ou de l'absence de la maladie.
3. En cas de résultats équivoques, l'analyse pourra être répétée soit avec un nouvel échantillon, soit ultérieurement. Il est important de tester régulièrement les patients pour suivre l'évolution du taux d'autoanticorps anti-ADNdb.
4. Les caractéristiques de performance de ce test n'ont pas été établies pour d'autres matrices que le sérum.
5. Les incohérences entre les différents tests pour les anticorps anti-ADNdb ont été décrites dans la littérature,^{4,9,16} et peuvent être dues à plusieurs différences d'ordre analytique et technique, ce qui inclut sans y être limité le type et la source de l'antigène, la méthode de détection et l'hétérogénéité des avidités des anticorps anti-ADNdb.

Valeur seuil et plage indéterminée

Le seuil de dosage a été déterminé en analysant les échantillons sur une population de référence de 170 patients. Il a été établi au-delà du 95^e centile des résultats obtenus sur les sujets de référence à 27 UI/mL. La limite supérieure de la plage indéterminée a été établie au-delà du 99^e centile des résultats à 35 UI/mL.

Valeurs attendues

Les taux d'anticorps anti-ADNdb ont été analysés à l'aide du QUANTA Flash dsDNA sur un panel de 300 donneurs de sang apparemment sains (131 femmes/169 hommes, âgés de 19 à 68 ans, l'âge moyen et médian étant de 44 ans). Avec une valeur seuil de 27 UI/mL et dans une plage indéterminée de 27-35 UI/mL, six échantillons (2,0 %) figuraient dans la plage indéterminée et quatre (1,3 %) échantillons étaient positifs avec le QUANTA Flash dsDNA. La concentration moyenne était de 11,6 UI/mL et les valeurs s'étendaient de < 9,8 à 81,9 UI/mL.

Traçabilité

Les étalons de la courbe maîtresse sont inspirés de la Première préparation internationale d'étalement pour l'ADNdb (code OMS : Wo/80). Dans le cadre de cette standardisation, les résultats sont indiqués en unités internationales (UI/mL).

Sensibilité et spécificité cliniques

L'étude de validation clinique a porté sur un total de 1151 échantillons dont 644 patients atteints de LED et 485 atteints d'arthrite rhumatoïde, de maladies thyroïdiennes autoimmunes, d'autres syndromes auto-immuns et diverses maladies infectieuses. Par ailleurs, 22 échantillons de patients atteints de lupus médicamenteux ont été testés.

Répartition des échantillons et taux de positivité anti-ADNdb dans l'étude de validation :

Diagnostic	N	QUANTA Flash dsDNA	
		Indéterminé	Positif
Lupus érythémateux disséminé	644	41	275
Syndrome primaire des antiphospholipides (SPAP)	20	2	3
Syndrome de Sjögren (SS)	50	1	3
Maladie cœliaque (MC)	20	3	0
Sclérodermie généralisée	40	4	3
Myopathie inflammatoire idiopathique (MII)	20	2	0
MCTD	20	3	3
Maladie de Crohn	20	0	1
Maladie de Grave	21	1	0
Thyroïdite de Hashimoto	61	4	3
Hépatite B	20	1	0
Hépatite C	18	1	0
Syphilis	20	0	1
Polyarthrite rhumatoïde (PR)	101	6	8
Vascularite	34	4	1
Contrôles sains *	20	0	0
Lupus médicamenteux induit (LMI) *	22	0	2
Total	1151	73	303

* Non inclus dans les valeurs de sensibilité et de spécificité cliniques

La sensibilité et la spécificité cliniques du test QUANTA Flash dsDNA ont été analysées de deux façons : en considérant les résultats indéterminés comme négatifs, puis comme positifs.

Analyse clinique (N=1109) Indéterminé = négatif		Diagnostic			Analyse (confiance à 95 %)
		LES	Contrôles	Total	
QUANTA Flash® dsDNA	Positif	275	26	301	Sensibilité : 42,7 % (38,9-46,6 %)
	Négatif	369	439	808	Spécificité : 94,4 % (91,9 - 96,3 %)
	Total	644	465	1109	

Analyse clinique (N=1109) Indéterminé = positif		Diagnostic			Analyse (confiance à 95 %)
		LES	Non LED	Total	
QUANTA Flash® dsDNA	Positif	316	58	374	Sensibilité : 49,1 % (45,2-52,9 %)
	Négatif	328	407	735	Spécificité : 87,5 % (84,2-90,2%)
	Total	664	465	1109	

Sur les 644 patients atteints de LES, 25 étaient atteints de néphrite lupique active. La sensibilité clinique du QUANTA Flash dsDNA sur cette population était de 80 % car 20 échantillons étaient positifs sur les 25.

Comparaison des méthodes avec dispositif de référence

Tous les échantillons de l'étude de validation clinique ont été testés à la fois avec le QUANTA Flash dsDNA et le test ELISA de référence.

Sur les 1 151 échantillons, les résultats figuraient dans la plage de mesure analytique du test QUANTA Flash et du test ELISA de référence pour 481 échantillons. Trois cent trente-trois échantillons présentaient des résultats inférieurs à la plage de mesure analytique du dosage du test QUANTA Flash (< 9,8 IU/mL) et 30 échantillons présentaient des résultats supérieurs (> 666,9 IU/mL).

La concordance entre le QUANTA Flash et le système de référence était de 98,8 % pour les échantillons inférieurs à la plage de mesure analytique du dosage (4 sur 333 étaient positifs avec le test de référence) et de 100 % pour les échantillons supérieurs (tous les échantillons étaient positifs avec le test de référence).

La comparaison des échantillons figurant dans la plage de mesure analytique du dosage est présentée dans les tableaux ci-après. Les données ont été analysées de deux façons, les résultats équivoques étant d'abord considérés comme positifs sur les deux tests, puis comme négatifs sur les deux tests.

Comparaison des méthodes - Dans la plage de mesure analytique du dosage (N=481) Indéterminé = négatif		QUANTA Flash® dsDNA			% concordance (confiance à 95 %)
		Négatif	Positif	Total	
ELISA de référence	Négatif	200	53	253	Conc. positive : 80,3 % (74,6 – 84,9 %)
	Positif	45	183	228	Conc. négative : 79,1 % (73,6 – 83,6 %)
	Total	245	236	481	Conc. totale : 79,6 % (75,8 – 83,0 %)

Comparaison des méthodes - Dans la plage de mesure analytique du dosage (N=481) Indéterminé = positif		QUANTA Flash® dsDNA			% concordance (confiance à 95 %)
		Négatif	Positif	Total	
ELISA de référence	Négatif	77	33	110	Concordance pos. = 68,5 % (63,6-73,0 %)
	Positif	117	254	371	Concordance nég. = 70,0 % (60,9-77,8 %)
	Total	194	287	481	Concordance générale = 68,8 % (64,5-72,8 %)

Précision et reproductibilité

La fidélité du test QUANTA Flash dsDNA a été évaluée sur 9 échantillons contenant diverses concentrations d'anticorps anti-ADNdb, conformément au document EP5-A3 du CLSI (Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Procedures - Approved Guideline), avec des échantillons testés en double, deux fois par jour, pendant 20 ou 21 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.

QUANTA Flash® dsDNA			Intra-analyse (répétabilité)		Inter-analyses		D'un jour à l'autre		Total	
ID échantillon	N	Moyenne (UI/ml)	ET (UI/mL)	CV (%)	ET (UI/mL)	CV (%)	ET (UI/mL)	CV (%)	ET (UI/mL)	CV (%)
1	80	14,1	0,5	3,3	0,3	2,1	0,3	2,1	0,6	4,4
2	84	27,3	1,5	5,4	1,1	3,9	0,8	2,9	2,0	7,3
3	80	35,6	0,8	2,3	0,8	2,2	0,6	1,7	1,3	3,6
4	84	49,0	2,4	4,9	2,2	4,5	1,2	2,5	3,5	7,1
5	84	86,4	4,0	4,7	3,5	4,0	3,1	3,5	6,1	7,1
6	84	132,4	6,8	5,1	6,6	4,9	5,3	4,0	10,8	8,2
7	84	137,6	6,5	4,7	2,9	2,1	5,5	4,0	9,0	6,6
8	84	344,8	23,1	6,7	2,4	0,7	8,0	2,3	24,6	7,1
9	84	402,8	27,9	6,9	0,0	0,0	14,1	3,5	31,2	7,8

Plage de mesure analytique

La limite de détection du test QUANTA Flash dsDNA s'élève à 786 RLU, ce qui correspond à 3 UI/mL. Cette limite a été déterminée en accord avec la recommandation EP17-A2 du CLSI, avec une proportion de faux positifs (α) inférieure à 5 % et de faux négatifs (β) inférieure à 5 % ; d'après la réalisation de 264 dosages, avec 144 mesures sur des blancs et 120 mesures sur des échantillons à faible concentration. La limite du blanc est de 520 RLU, ce qui correspond à 2,2 UI/mL. La limite de quantification est de 1805 RLU (6,6 UI/mL). Cette limite a été déterminée en accord avec la recommandation EP17-A2 du CLSI, d'après la réalisation de 120 dosages, et un objectif d'erreur totale de 20 %. La limite du blanc, la limite de détection et la limite de quantification sont inférieures à la plage de mesure analytique.

La plage de mesure analytique du test était comprise entre 9,8 UI/mL et 666,9 UI/mL. 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 avec différentes concentrations d'anticorps anti-ADNdb ont été dilués en série pour obtenir des valeurs qui couvrent la plage de mesure analytique. Tous ces 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 %)	R ²
Tous les échantillons (n=5)	1,03 (1,02 à 1,05)	0,99

Calibrators

Pour usage diagnostique *In Vitro*. Complexité CLIA : modérée

réf

701176

Rx Only

Utilisation prévue

Les QUANTA Flash dsDNA Calibrators sont destinés à être utilisés avec le test de dosage par chimiluminescence QUANTA Flash dsDNA pour le dosage des anticorps IgG anti-ADNdb 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 du test

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

Réactifs

1. QUANTA Flash dsDNA Calibrator 1 : Deux (2) tubes à code-barres contenant 0,7 mL de réactif prédilué, prêt à l'emploi. Étalons contenant des anticorps humains anti-ADNdb dans des stabilisateurs et des conservateurs.
2. QUANTA Flash dsDNA Calibrator 2 : Deux (2) tubes à code-barres contenant 0,7 mL de réactif prédilué, prêt à l'emploi. Étalons contenant des anticorps humains anti-ADNdb 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 dsDNA Calibrators doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.¹⁵
2. Utiliser un équipement de protection personnelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
3. Les éclaboussures de réactifs doivent être nettoyées immédiatement. Respecter toutes les législations environnementales nationales et locales relatives à l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est à usage diagnostique *in vitro*.
2. Les étalons QUANTA Flash dsDNA Calibrators sont destinés à être utilisés avec le test QUANTA Flash dsDNA.
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 par produit chimique des réactifs 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 lorsqu'ils sont conservés et manipulés conformément aux instructions.
2. Les étalons ouverts doivent être éliminés après 8 heures à bord de l'appareil sans bouchon.

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 les placer tous les deux dans un portoir d'échantillons, les codes-barres visibles 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 dosage 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 dsDNA Controls (vendus séparément sous la référence 701177) après avoir étalonné un lot de cartouches de réactifs.

Traçabilité

Les étalons sont inspirés de la Première préparation internationale d'étalon pour l'ADNdb (code OMS : Wo/80). Dans le cadre de cette standardisation, les résultats sont indiqués en unités internationales (UI/mL).

Restrictions

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. Si les étalons restent à bord de l'appareil sans capuchon au-delà de la période préconisée, 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.

QUANTA Flash® dsDNA Controls



Pour usage diagnostique *In Vitro*. Complexité CLIA : modérée

RÉF **701177**

Rx Only

Utilisation prévue

Les QUANTA Flash dsDNA Controls sont destinés à être utilisés avec le test de dosage par chimiluminescence QUANTA Flash dsDNA pour le contrôle qualité du dosage des anticorps IgG anti-ADNdb dans le sérum humain.

Résumé et principes du test

Les contrôles QUANTA Flash dsDNA Controls se composent de contrôles à seuils de sensibilité faible et élevé. Chacun contient une quantité différente d'anticorps anti-ADNdb. Les contrôles à seuils de sensibilité faible et élevé sont utilisés pour surveiller les performances analytiques du test QUANTA Flash dsDNA.

Réactifs

1. QUANTA Flash dsDNA Low Control : Deux (2) tubes à code-barres contenant 0,7 mL de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps humains anti-ADNdb dans des stabilisateurs et des conservateurs.
2. QUANTA Flash dsDNA High Control : Deux (2) tubes à code-barres contenant 0,7 mL de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps humains anti-ADNdb 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 dsDNA Controls doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.¹⁵
2. Utiliser un équipement de protection personnelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
3. Les éclaboussures de réactifs doivent être nettoyées immédiatement. Respecter toutes les législations environnementales nationales et locales relatives à l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est à usage diagnostique *in vitro*.
2. Les contrôles QUANTA Flash dsDNA Controls sont destinés à être utilisés avec le test QUANTA Flash dsDNA.
3. Ne pas transférer les réactifs de contrôles 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 par produit chimique des réactifs 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 lorsqu'ils sont conservés et manipulés conformément aux instructions.
2. Les contrôles sont conçus pour 15 utilisations, avec une durée moyenne de 10 minutes par utilisation dans 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.

Procédure

Créer de nouveaux matériaux CQ pour le test ADNdb :

1. Avant d'utiliser des contrôles QUANTA Flash dsDNA 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 saisis dans le logiciel.
2. À l'écran **Instrument Summary**, cliquer sur le bouton fléché **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Sélectionner **QC 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 dsDNA 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 dsDNA 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 test dsDNA en surbrillance dans la colonne de gauche. Ensuite, mettre le matériel de contrôle approprié en surbrillance à droite (« DNAL » pour le contrôle à seuil de sensibilité bas ou « DNAH » pour le contrôle à seuil de sensibilité élevé). 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 dsDNA 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 dsDNA 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 les placer tous les deux dans un portoir d'échantillons, les codes-barres visibles 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

Les contrôles sont inspirés de la Première préparation internationale d'étalon pour l'ADNdb (code OMS : Wo/80). Dans le cadre de cette standardisation, les résultats sont indiqués en unités internationales (UI/mL).

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. Tan E: **Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): Their immunobiology and medicine.** *Advances in Immunology* 1982, **33**: 167-239.
2. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F, Piazza A, Pradella M, Rizzotti P; Italian Society of Laboratory Medicine Study Group on the Diagnosis of Autoimmune Diseases. **Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases.** *Am J Clin Pathol.* 2002 Feb, **117**(2):316-324.
3. Casals SP, Friou GJ, Myers LI. **Significance of antibody to DNA in Systemic Lupus Erythematosus.** *Arthritis Rheum.* 1964 Aug, **7**:379-390.
4. Egner W. **The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE.** *J Clin Pathol.* 2000 Jun, **53**(6):424-432
5. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, Schaller JG, Talal N, Winchester RJ. **The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus.** *Arthritis Rheum.* 1982, **25**:1271-1277.
6. Hochberg M. **Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus.** *Arthritis Rheum.* 1997, **40**:1725-1734.
7. Eilat D. **The measurement of anti-DNA reactivity in the sera of patients with SLE: theoretical and practical considerations.** *Autoimmunity* 1989, **3**:299-296.
8. Isenberg DA, Dudeney C, Williams W, Addison I, Charles S, Clarke J, Todd-Pokropek A. **Measurement of anti-DNA antibodies: a reappraisal using five different methods.** *Ann Rheum Dis.* 1987, **46**:448-456.
9. Haugbro K, Nossent JC, Winkler T, Figenschau Y, Rekvig OP. **Anti-dsDNA antibodies and disease classification in antinuclear antibody positive patients: The role of analytical diversity.** *Ann Rheum Dis.* 2004 Apr, **63**(4):386-394.
10. Pisetsky DS, Peters DV: **A simple enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to native DNA.** *Journal Immunol Methods.* 1981, **41**:187.
11. Crowe W, Kushner I: **An immunofluorescent method using Crithidia luciliae to detect antibodies to double-stranded DNA.** *Arthritis and Rheumatism.* 1977, **20**: 811.
12. Permin H, Halberg P, Christiansen E. **Antibodies against double-stranded DNA in patients with connective tissue diseases. Comparison between Crithidia luciliae kinetoplast immunofluorescence test and Farr technique.** *Acta Med Scand.* 1978, **203**(1-2):61-65.
13. ter Borg EJ, Horst G, Hummel EJ, Limburg PC, Kallenberg CG. **Measurement of increases in anti-double stranded DNA antibody levels as a predictor of disease exacerbation on systemic lupus erythematosus, a long term, prospective study.** *Arthritis Rheumatism.* 1990; **33**:634-643.
14. Bootsma H, Spronk P, Derkzen R, de Boer G, Wolters-Dicke H, Hermans J, Limburg P, Gmelig-Meyling F, Kater L, Kallenberg C. **Prevention of relapses in systemic lupus erythematosus.** *Lancet.* 1995, **345**:1595-1599.
15. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition.** Centers for Disease Control/National Institute of Health, 2009.
16. Chiaro TR, Davis KW, Wilson A, Suh-Lailam B, Tebo AE. **Significant differences in the analytic concordance between anti-dsDNA IgG antibody assays for the diagnosis of systemic lupus erythematosus--implications for inter-laboratory testing.** *Clin Chim Acta.* 2011, **412**:1076-80.

Symboles utilisés

IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>		Fabricant
CE	Conformité aux normes européennes	EC REP	Représentant autorisé
Rx Only	Uniquement sur ordonnance selon la FDA américaine		Contenu suffisant pour < n > tests
	Consulter les instructions d'utilisation.	CONTROL H	Contrôle à seuil de sensibilité élevé
	Limite de température	CONTROL L	Contrôle à seuil de sensibilité faible
	Ne pas réutiliser	CAL 1	Étalon 1
	Risques biologiques	CAL 2	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. Tous droits réservés © 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

621175FR

Avril 2016

Révision 4

