

QUANTA Flash® Centromere

Reagents

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



REF

701198

Rx Only

Utilisation prévue

QUANTA Flash Centromere est un dosage immunologique par chimiluminescence pour la mesure semi-quantitative des auto-anticorps IgG anti-protéine centromère B dans le sérum humain. La présence d'auto-anticorps anti-protéine centromère B est utilisée conjointement avec les résultats cliniques et les autres tests de laboratoire pour faciliter le diagnostic de la sclérodermie généralisée.

Résumé et explication du test

Les auto-anticorps réactifs avec la zone centromère des chromosomes ont été décrits pour la première fois en 1980.¹ Généralement, les anticorps anti-centromère (CENP) sont détectés par immunofluorescence indirecte (IFI), en utilisant des lignées cellulaires sur culture de tissu se divisant rapidement, telles que le HEp-2, comme substrat.¹ On sait maintenant que ce que l'on appelle centromère se compose de plusieurs sous-composants de protéine, dont les plus importants pour le diagnostic sont CENP-A, CENP-B et CENP-C.^{1,2} De nombreuses sous-unités centromériques ont été isolées ou clonées. Plusieurs autres antigènes ont été identifiés, mais leurs anticorps sont détectés beaucoup plus rarement. La plupart des essais portant sur la détection d'anticorps anti-CENP reposent sur le CENP-B recombinant¹ qui présente une sensibilité d'environ 95 % par rapport à l'IFI utilisant un substrat cellulaire de HEp-2.¹⁻³

Les anticorps anti-centromère sont détectés sous forme de marqueurs sérologiques d'une forme de sclérodermie généralisée (SG), ou sclérodermie, généralement appelée syndrome CREST (calcinose, phénomène de Raynaud, trouble de la motilité œsophagienne, sclérodactylie et télangiectasie).^{1,2} Les patients présentant des anticorps anti-centromère ont tendance à souffrir de la forme plus bénigne de la SG, avec une faible atteinte systémique. Les anticorps anti-protéines centromères sont quasiment exclusifs dans les échantillons présentant des anticorps anti-ARN Poli III ou anti-Scl-70.¹

Principes du test

La protéine B recombinante du centromère est revêtue sur des billes paramagnétiques stockées dans la cartouche de réactifs dans des conditions préservant l'antigène dans son état réactif. Lorsque la cartouche de test est prête à être utilisée pour la première fois, une solution tampon est ajoutée au tube contenant les billes préservées pour les mélanger avec le tampon. Elle est ensuite chargée sur l'appareil BIO-FLASH®.

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

Le test QUANTA Flash Centromere 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 Centromere Reagent Cartridge contient les réactifs suivants pour 50 déterminations :
 - a. Billes paramagnétiques revêtues de centromère, conservées avant la première utilisation.
 - 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 stabilisants 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毒ique 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 à 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 dans 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, ou ayant été thermotraités, ou bien 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 500 UI/ml de facteur rhumatoïde IgM ont produit une interférence avec le test QUANTA Flash Centromere inférieure ou égale (\leq) à 15 %.

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

1. Conserver les échantillons à température ambiante pendant 8 heures maximum.
2. Si le test n'est pas effectué dans les 8 heures, réfrigerer 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 Centromere 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 Centromere Calibrators (réf. : 701196)

QUANTA Flash Centromere Controls (réf. : 701197)

Utilisation de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH

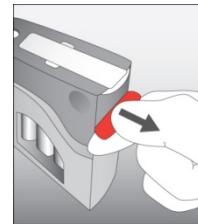
1. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH. Pour toute information complémentaire et pour résoudre les problèmes liés à ce test, contacter le service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

Méthode

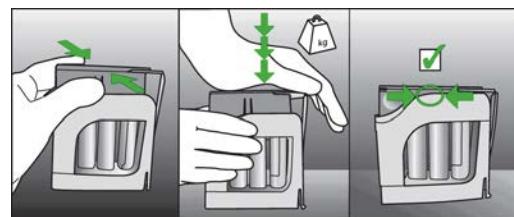
Préparation de la cartouche de réactifs

La première fois que la cartouche de réactifs est utilisée, les pastilles de conservation situées sur les tubes de réactif doivent être percées et les billes revêtues de centromère doivent être mélangées avec le tampon de remise en suspension. Remarque : ne pas utiliser la cartouche de réactifs en cas de détérioration visible.

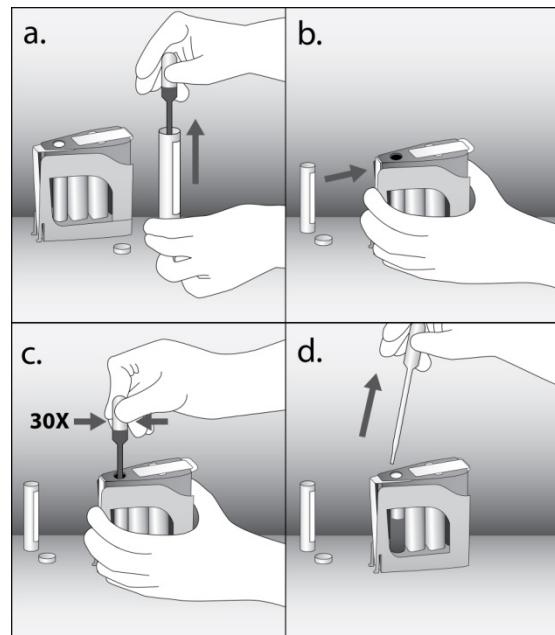
1. Placer la cartouche de réactifs sur une surface solide. Maintenir la cartouche de réactifs en place d'une main. De l'autre main, saisir fermement la languette rouge, située à l'arrière de la cartouche de réactifs et tirer dessus pour la retirer complètement.



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.



3. Remettre les réactifs du kit 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 de manière analytique l'ensemble du contenu du flacon dans le tube de réactif à billes, à travers l'orifice unique situé en haut de la cartouche de réactifs.
 - c. Mélanger le contenu du tube de réactif à billes 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. 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 **QUANTA Flash® Centromere Calibrators 701196** 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 Centromere 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 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 Centromere Controls (vendus séparément sous la référence Inova 701197) contiennent à la fois des contrôles centromères positifs et négatifs. Se reporter à la section intitulée **QUANTA Flash® Centromere Controls 701197** de cette notice pour obtenir des instructions détaillées sur la saisie de la valeur d'unité et de l'écart type de chaque contrôle dans le logiciel, ainsi que sur l'analyse des contrôles. Il est recommandé d'analyser les contrôles une fois par jour où le dosage est utilisé. Les utilisateurs doivent toutefois tenir compte des exigences règlementaires en vigueur.

Calcul des résultats

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

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

La réactivité en unités CU est directement liée au titre de l'auto-anticorps présent dans l'échantillon patient. Les augmentations et diminutions de concentrations d'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 test s'étend de 3,4 CU à 708,9 CU. Si le résultat d'un patient est inférieur à 3,4 CU, le système BIO-FLASH indique « <3,4 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 708,9 CU, le système BIO-FLASH indique « >708,9 CU ». Ce résultat est considéré comme positif. Le logiciel BIO-FLASH possède une option de réexécution automatique. Lorsqu'elle est sélectionnée, l'appareil reteste automatiquement les échantillons dont le résultat est supérieur à 708,9 CU en les diluant de nouveau par un facteur 20, puis calcule l'unité CU réelle à l'aide de ce facteur de dilution supplémentaire.

Interprétation des résultats

Chaque laboratoire doit 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 Centromere. Les valeurs obtenues avec des méthodes de test de fabricants différents ne peuvent être utilisées de façon interchangeable. »

Limites du test

1. Certains patients souffrant d'une sclérodermie généralisée sont négatifs aux anticorps anti-CENP-B.
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 centromère 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.

Valeurs attendues

Pour déterminer les valeurs attendues, le sérum de 400 donneurs semblant en bonne santé a été analysé. La moyenne était de 3,98 CU. Quatre-vingt-dix-sept pourcent des donneurs de sang en bonne santé présentent des résultats compris entre 3,4 et 3,5 CU.

Traçabilité

Il n'existe aucun sérum de référence international permettant de standardiser les tests des anticorps anti-centromère. Le sérum de référence du CDC (Center of Disease Control and Prevention) pour les anticorps anti-centromère a donc été testé (IS2134 ANA #8 FANA centromère) ; une concentration de 500,8 CU a été déterminée.

Sensibilité et spécificité cliniques

L'étude de validation clinique comprenait 137 échantillons de patients souffrant d'une sclérodermie généralisée (SG), 92 arthrites rhumatoïdes (AR), 168 lupus érythémateux disséminés (LED), 49 maladies inflammatoires chroniques intestinales, 27 maladies de Crohn, 30 rectocolites ulcéro-hémorragiques, 19 scléroses multiples, 33 thyroïdites de Hashimoto, 58 maladies de Grave, 40 cystites interstitielles, 27 asthmes, 14 arthroses, 31 virus de l'hépatite B, 24 virus de l'hépatite C, 8 virus de l'immunodéficience humaine, 9 syphilis et 65 patients souffrant d'autres pathologies.

Les résultats de ce test sont présentés ci-dessous :

Étude clinique (N = 831)		Diagnostic			Analyse (confiance à 95 %)
		Sclérodermie généralisée	Sans sclérodermie généralisée	Total	
QUANTA Flash Centromere	Positif	32	6*	38	Sensibilité = 23,4% (16,6 - 31,3 %)
	Négatif	105	688	793	Spécificité = 99,1% (98,1 - 99,7 %)
	Total	137	694	831	

* un échantillon d'un patient souffrant du syndrome de Sharp, un échantillon d'un patient souffrant d'un syndrome CREST incomplet (CRES), un échantillon d'un patient souffrant d'un LES, un échantillon d'un patient asthmatique, un AR et un d'une autre maladie ; 2 échantillons sur 6 étaient également positifs avec le test ELISA

Spécificité clinique chez la population cible

Groupe de patients	N	Nb de positifs	Spécificité
Lupus érythémateux disséminé (LED)	168	1	99,4%
Polyarthrite rhumatoïde	92	1	98,9%
Rectocolite ulcéro-hémorragique	30	0	100,0%
Maladie de Crohn	27	0	100,0%
Sclérose multiple	19	0	100,0%
Maladie inflammatoire chronique intestinale	49	0	100,0%
Thyroïdite de Hashimoto	33	0	100,0%
Maladie de Grave	58	0	100,0%
Cystite interstitielle	40	0	100,0%
Asthme	27	1	96,3%
Arthrose	14	0	100,0%
Maladie infectieuse*	72	0	100,0%
Autres maladies [†]	65	3	95,4%
Nb total de sujets sains	694	6	99,1%

*Maladie infectieuse : virus de l'hépatite B (31), virus de l'hépatite C (24), virus de l'immunodéficience humaine (8), syphilis (9)

[†] maladie auto-immune non systémique, diagnostic en attente (32), apparition tardive d'un LED (6), pseudoarthrite rhizomélique (6), maladies du tissu conjonctif (5), maladie de Raynaud (3), chevauchement du LED/maladie de Raynaud (2), goutte (2), arthropathie psoriasique (2), cirrhose biliaire primitive (1), couperose (1), sacro-illite (1), fibromyalgie (1), carcinome du côlon (1), syndrome du QT long (1), CREST incomplet (1)

Comparaison des méthodes avec dispositif de prédiction

Les échantillons utilisés pour l'analyse de comparaison des méthodes comportaient des échantillons (n=303) issus des études de validation clinique et de comparaisons de méthodes, y compris des échantillons hors-plage de mesure analytique. Ces échantillons ont été testés avec le test QUANTA Flash Centromere et le test ELISA de prédiction.

Comparaison des méthodes (N=303)		Centromere ELISA			Pourcentage de concordance (confiance à 95 %)
		Positif	Négatif	Total	
QUANTA Flash Centromere CIA	Positif	22	1	23	Concordance pos. = 64,7 % (46,5-80,3 %)
	Négatif	12	268	280	Concordance nég. = 99,6 % (97,9-99,9 %)
	Total	34	269	303	

Sur les 303 échantillons, 76 se trouvaient dans la plage de mesure analytique.

Comparaison des méthodes (N=76)		Centromere ELISA			Pourcentage de concordance (confiance à 95 %)
		Positif	Négatif	Total	
QUANTA Flash Centromere CIA	Positif	12	1	13	Concordance pos. = 70,6 % (44,0-89,7 %)
	Négatif	5	58	63	Concordance nég. = 98,3 % (90,9-100,0 %)
	Total	17	59	76	

Après ajout des échantillons contraints autour du seuil, 103 se situaient dans la plage de mesure analytique.

Comparaison des méthodes (N = 103)		Centromere ELISA			Pourcentage de concordance (confiance à 95 %)
		Positif	Négatif	Total	
QUANTA Flash Centromere CIA	Positif	24	4	28	Concordance pos. = 68,6 % (50,7-83,1 %)
	Négatif	11	64	75	Concordance nég. = 94,1 % (85,6-98,4 %)
	Total	35	68	103	

Précision et reproductibilité

La précision du test QUANTA Flash Centromere a été évaluée en analysant les échantillons de 10 patients, conformément au document EP05-A2 du CLSI. Les données sont résumées ci-dessous :

Échanti	N	Moyenne	Intra-analyse		Inter-analyses		D'un jour à l'autre		Total	
			Écart	% CV	Écart	% CV	Écart	% CV	Écart	% CV
A	80	6,2	0,16	2,6%	0,18	3,0%	0,34	5,4%	0,41	6,7%
B	80	13,5	0,49	3,7%	0,28	2,1%	0,66	4,9%	0,87	6,5%
C	80	16,6	0,87	5,2%	0,92	5,5%	0,92	5,6%	1,56	9,4%
D	80	16,8	0,82	4,9%	0,99	5,9%	0,90	5,3%	1,56	9,3%
E	80	22,9	0,86	3,7%	0,52	2,2%	0,91	4,0%	1,36	5,9%
F	80	60,9	1,98	3,2%	1,26	2,1%	3,35	5,5%	4,09	6,7%
G	80	103,3	5,74	5,6%	0,42	0,4%	4,21	4,1%	7,13	6,9%
H	80	197,9	13,21	6,7%	0,00	0,0%	11,85	6,0%	17,74	9,0%
I	80	321,4	24,54	7,6%	0,00	0,0%	27,81	8,7%	37,09	11,5%
J	80	463,2	33,64	7,3%	0,00	0,0%	22,85	4,9%	40,67	8,8%

Limites de détection ; plages de linéarité et de mesure analytique

Conformément au document EP17-A2 du CLSI, la limite de détection inférieure de ce test est d'environ 370,2 RLU, soit 1,0 CU, c'est-à-dire bien au-dessous de la limite inférieure de la plage de mesure analytique. L'ensemble de la plage de mesure analytique, qui s'étend de 3,4 CU à 708,9 CU, est linéaire. L'écart par rapport à la linéarité était inférieur à 17 %. Une étude de linéarité a été menée conformément au document EP06-A du CLSI. Les données sont résumées ci-dessous :

Échantillons	Plage de test (CU)	Pente (IC à 95 %)	Origine à l'ordonnée (IC à 95 %)	R ²
Tous	2,0 à 903,9	1,07 (1,00 à 1,01)	-1,43 (-2,93 à 0,06)	1.00

QUANTA Flash® Centromere

Calibrators



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

REF

701196

Rx Only

Utilisation prévue

Les QUANTA Flash Centromere Calibrators sont conçus pour une utilisation avec les QUANTA Flash Centromere Reagents pour le dosage des auto-anticorps IgG anti-protéine centromère B dans le sérum humain. Chaque étalon fournit un point de référence pour la courbe de travail qui sert à calculer les valeurs des unités.

Résumé et principes du test

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

Réactifs

1. QUANTA Flash Centromere 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-centromère dans un tampon, stabilisateurs et conservateurs.
2. QUANTA Flash Centromere Calibrator 2: Deux (2) tubes portant des étiquettes à code-barres contenant 0,3 mL de réactif prédilué, prêts à l'emploi. Les étalons contiennent des anticorps humains anti-centromère dans un tampon, des stabilisateurs et des conservateurs.

Avertissements

1. Les étalons contiennent un produit chimique (chloramphénicol à 0,02 %) répertorié par l'État de Californie comme provoquant le cancer.
2. 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.
3. 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 étalons QUANTA Flash Centromere doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.⁵
4. Utiliser un équipement de protection personnelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.

5. 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 Centromere Controls doivent être utilisés avec le test QUANTA Flash Centromere.
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. Lorsqu'un tube d'étalon est ouvert, il est utilisable pendant 8 heures ou pour 4 étalonnages maximum. Le réactif doit ensuite être éliminé.
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.

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 Centromere Controls (vendus séparément sous la référence 701197) 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-centromère. Le sérum de référence du CDC (Center of Disease Control and Prevention) pour les anticorps anti-centromère a donc été testé (IS2134 ANA #8 FANA centromère) ; une concentration de 500,8 CU a été déterminée.

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 des mêmes tubes d'étalons pour plus de 4 étalonnages et/ou pendant plus de 8 heures peut entraîner un étalonnage inadapté du test, qui peut à son tour produire des résultats inexacts..

QUANTA Flash® Centromere Controls



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

REF

701197

Rx Only

Utilisation prévue

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

Résumé et principes du test

Les QUANTA Flash Centromere Controls se composent d'un contrôle négatif et d'un contrôle positif. Chacun contient une quantité différente d'anticorps anti-centromère. Le contrôle négatif est conçu pour évaluer la fidélité et l'exactitude du test à des taux d'anticorps très bas. Le contrôle positif est conçu pour évaluer la précision et l'exactitude du test à des taux d'anticorps modérés à élevés.

Réactifs

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

Avertissements

1. Les contrôles contiennent un produit chimique (chloramphénicol à 0,02 %) connu dans l'État de Californie pour provoquer le cancer.
2. 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.
3. 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 Centromere Controls doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.⁵
4. Utiliser un équipement de protection personnelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
5. 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 Centromere Controls doivent être utilisés avec le test QUANTA Flash Centromere.
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 maximum à bord de l'instrument de **10 minutes par utilisation**.
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 maximum à bord de l'instrument de **10 minutes** par utilisation. Le temps total pendant lequel les tubes de contrôle peuvent rester sans capuchon à bord du système est de 2,5 heures ou 10 minutes par utilisation. Au-delà, ils doivent être éliminés. Utiliser le même tube de contrôle plus de 15 fois et/ou pendant plus de 2,5 heures au total peut générer des résultats erronés.
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 matériaux CQ pour le test Centromere :

1. Avant d'utiliser des QUANTA Flash Centromere 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 Centromère 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.

Pour créer un nouveau lot de matériels CQ existants :

1. Avant d'utiliser un nouveau lot de QUANTA Flash Centromere 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 CEN en surbrillance dans la colonne de gauche. Ensuite, mettre le matériau de contrôle approprié en surbrillance à droite (« CENN » pour le contrôle négatif ou « CENP » 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 CEN 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 Centromere 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 aucun sérum de référence international permettant de standardiser les tests des anticorps anti-centromère. Le sérum de référence du CDC (Center of Disease Control and Prevention) pour les anticorps anti-centromère a donc été testé (IS2134 ANA #8 FANA centromère) ; une concentration de 500,8 CU a été déterminée.

Limites

Ces contrôles sont conçus pour 15 utilisations. L'étiquette apposée sur chaque tube de contrôle possède une rangée de 15 cases pouvant être cochées afin de suivre le nombre d'utilisations. Le temps total pendant lequel les tubes de contrôle peuvent rester sans capuchon à bord du système est de 2,5 heures ou 10 minutes par utilisation. Au-delà, ils doivent être éliminés. Utiliser les mêmes tubes de contrôle plus de 15 fois et/ou pendant plus de 2,5 heures au total peut produire des résultats inexacts..

Bibliographie

1. Fritzler MJ, Rattner JB, Luft LM, Edworthy SM, Casiano CA, Peebles C, et al. **Historical perspectives on the discovery and elucidation of autoantibodies to centromere proteins (CENP) and the emerging importance of antibodies to CENP-F.** *Autoimmun Rev* 2011, **10**:194-200.
2. Mahler M, Fritzler MJ: **Epitope specificity and significance in systemic autoimmune diseases.** *Ann N Y Acad Sci* 2010; **1183**:267-287.
3. Mahler M, You D, Baron M, Taillefer SS, Hudson M; Canadian Scleroderma Research Group(CSRG), Fritzler MJ. **Anti-centromere antibodies in a large cohort of systemic sclerosis patients: comparison between immunofluorescence, CENP-A and CENP-B ELISA.** *Clin Chim Acta* 2011, **412**:1937-1943.
4. Walker JG, Pope J, Baron M, Leclercq S, Hudson M, Taillefer S, Edworthy SM, et al. **The development of systemic sclerosis classification criteria.** *Clin Rheumatol* 2007, **26**:1401-1409.
5. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.** Centers for Disease Control/National Institute of Health, 2009, Fifth Edition.

Symboles utilisés

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

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

621195FR

Avril 2018
Révision 4

