

QUANTA Flash® ENA7

Reagents

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

REF

701258, 701255

Rx Only

Utilisation prévue

Le QUANTA Flash ENA7 est un immunodosage de chimiluminescence destiné au dépistage qualitatif des auto-anticorps IgG anti-Sm, RNP, Ro60 (SS-A), Ro52/TRIM21, SS-B (La), Scl-70 (topoisomérase I) et Jo-1 dans le sérum humain. La présence de ces auto-anticorps peut être utilisée conjointement avec les résultats cliniques et les autres tests de laboratoire pour faciliter le diagnostic du lupus érythémateux disséminé (LED), de la sclérodermie systémique (ScS), de la polymyosite (PM), de la dermatomyosite (DM), du syndrome de Sjögren (SSj) et de la connectivité mixte (Mixed Connective Tissue Disease, MCTD).

Résumé et explication du test

Les anticorps anti-nucléaires (ANA) sont présents dans une grande diversité de pathologies du tissu conjonctif et servent à ce titre de test de dépistage sensible^{1,2,3}. Bien que le test des ANA soit parfaitement adapté au dépistage du LED (un résultat négatif exclut quasi-systématiquement tout LED actif), il ne s'agit en aucun cas d'un test spécifique^{2,3}. Les anticorps anti-antigènes nucléaires solubles (ENA) peuvent contribuer significativement au diagnostic et apporter des informations pronostiques précieuses lors de l'examen de patients chez qui l'on suspecte diverses pathologies du tissu conjonctif, notamment le LED, la sclérodermie généralisée, le syndrome de Sjögren et la myosite auto-immune (MAI)¹. Sept des auto-anticorps particulièrement utiles, et les plus testés pour l'ENA, réagissent avec les antigènes Sm⁴, RNP⁴, Ro60^{5,6}, Ro52^{5,6}, SS-B¹, Scl-70⁷ et Jo-1¹.

Le kit QUANTA Flash ENA7 CIA permet de dépister simultanément et dans un seul puits les auto-anticorps anti-Sm, RNP, Ro60, Ro52, SS-B, Scl-70 et Jo-1 éventuellement présents dans les échantillons patients. Les échantillons négatifs à ce test de dépistage seront probablement négatifs pour les anticorps dirigés contre Sm, RNP, Ro60, Ro52, SS-B, Scl-70 et Jo-1. Les échantillons positifs à ce test de dépistage doivent être retestés avec un autre test spécifique aux ENA (par ex. CIA ou ELISA) pour confirmer la positivité, et ainsi s'assurer de la spécificité des auto-anticorps et, si nécessaire, pour quantifier les taux d'anticorps spécifiques.

Diverses méthodes, y compris la double diffusion d'Ouchterlony et l'agglutination passive, ont été utilisées pour détecter les anticorps anti-Sm, RNP, SS-A, SS-B, Scl-70 et Jo-1. Des tests ELISA utilisés en conditions cliniques pour détecter les anticorps anti-Sm, RNP, SS-A, SS-B, Scl-70 et Jo-1 ont également été mis au point^{1,4,5,6,7}.

Principes du test

Les antigènes Ro60, Scl-70, Jo-1, Ro52, SS-B (La), Sm native et RNP recombinants 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 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 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 d'ENA7 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. L'anticorps IgG antihumain conjugué à l'isoluminol est alors ajouté à la cuvette et incubé à 37 °C. Les billes sont à nouveau 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-ENA liée à l'ENA7 sur les billes.

Le test QUANTA Flash ENA7 utilise une courbe maîtresse prédéfinie spécifique au lot qui est chargée dans l'appareil par le biais du code-barres de la cartouche de réactifs. Selon les résultats obtenus en testant deux étalons, une courbe d'étalonnage spécifique à l'appareil est générée. Le logiciel s'en sert pour calculer les unités de chimiluminescence (CU) à partir des valeurs RLU obtenues pour chaque échantillon.

Réactifs

1. La cartouche de réactifs QUANTA Flash ENA7 contient les réactifs suivants pour 50 déterminations (701258) / 100 déterminations (701255):
 - a. Billes paramagnétiques revêtues de ENA7, conservées avant la première utilisation.
 - b. Tampon de dosage : de couleur rose, contenant une solution saline tamponnée Tris, du Tween 20, des stabilisants de protéines et des conservateurs.
 - c. IgG marqueur : anticorps IgG antihumain marqué à l'isoluminol, contenant du tampon, des stabilisants de protéines et un conservateur.
2. Tampon de remise en suspension, 1 flacon : contenant du tampon, des stabilisateurs de protéine et des conservateurs.

Avertissements

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

Précautions

1. Ce produit est 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 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 et le tampon de remise en suspension entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption dans des conditions de stockage et d'utilisation conformes.
2. Les cartouches de réactifs ouvertes doivent être conservées à l'intérieur de l'appareil. Le logiciel BIO-FLASH surveille la date de péremption (en cours d'utilisation) des cartouches de réactifs à bord de l'appareil, de même que la date de péremption du 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 et thermo-traités ou contenant des particules visibles ne doivent pas être utilisés.

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

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

Mode opératoire

Matériel fourni

- | | |
|---|---|
| 1 | Cartouche de réactifs QUANTA Flash ENA7 |
| 1 | Tampon de remise en suspension |
| 1 | Pipette de transfert |

Matériel supplémentaire requis mais non fourni

Appareil BIO-FLASH avec ordinateur

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

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

Cuvettes BIO-FLASH (réf. : 3000-8206)

Étalons QUANTA Flash ENA7 (réf. : 701256)

Contrôles QUANTA Flash ENA7 (réf. : 701257)

Utilisation de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH

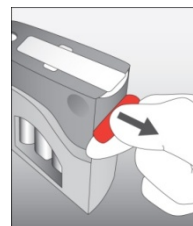
1. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH. Pour toute information complémentaire et pour résoudre les problèmes liés à ce test, contacter le service technique d'Inova Diagnostics, Inc. à l'adresse ou aux numéros 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

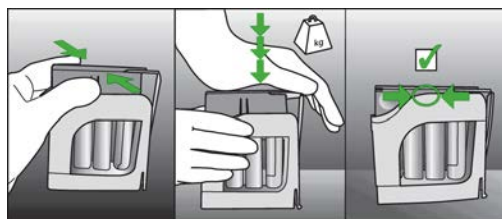
Préparation de la cartouche de réactifs

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.

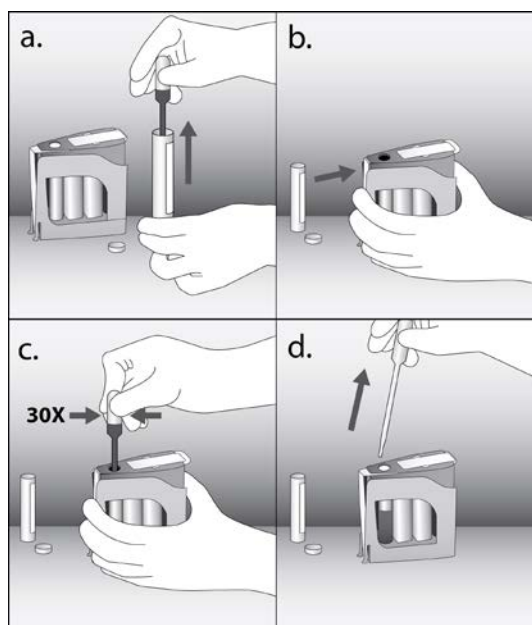
1. Placer la cartouche de réactifs sur une surface solide. Maintenir la cartouche de réactifs en place d'une main. De l'autre main, saisir fermement la languette rouge, située à l'arrière de la cartouche de réactifs et tirer dessus pour la retirer complètement.



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. **NE PAS RETOURNER LA CARTOUCHE UNE FOIS OUVERTE.**



3. Remise en suspension des billes :
 - 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 précautionneusement 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.

- Placer la cartouche de réactifs dans une fente ouverte du carrousel de réactifs de l'appareil BIO-FLASH.

Étalonnage du test

- 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.
- Se reporter à la section intitulée **Étalons QUANTA Flash® ENA7 701256** de cette notice pour obtenir des instructions détaillées sur l'étalonnage de la cartouche de réactifs.
- 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

- Appuyer sur le bouton **Worklist** en haut de l'écran, puis sélectionner l'onglet **Racks** en bas.
- 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 ENA7 dans le volet de dosages. Recommencer ces étapes pour tous les échantillons.
- Charger les échantillons dans les positions sélectionnées du portoir, puis charger ce dernier dans le carrousel d'échantillons de l'appareil.
- Si tous les matériaux requis sont à bord de l'appareil, l'icône de démarrage apparaît en vert en haut de l'écran. Appuyer sur l'icône **Start F4** pour débiter le test.

Contrôle de la qualité

Les contrôles QUANTA Flash ENA7 (vendus séparément sous la référence Inova 701257) contiennent à la fois des contrôles ENA7 positifs et négatifs. Se reporter à la section intitulée **Contrôles QUANTA Flash® ENA7 701257** de cette 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 six points est créée par Inova pour chaque lot de QUANTA Flash ENA7. Cette courbe logistique à quatre paramètres est codée dans le code-barres de chaque cartouche de réactifs. Dès que la cartouche de réactifs a été étalonnée, une courbe d'étalonnage spécifique à l'appareil est utilisée pour convertir les unités RLU en unités CU. La réactivité des anticorps anti-ENA7 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 approximativement liée au titre de l'auto-anticorps présent dans l'échantillon patient.

La plage de mesure analytique du test s'étend de 3,6 CU à 429,4 CU. Si le résultat d'un patient est inférieur à 3,6 CU, le système BIO-FLASH indique « <3,6 CU ». Dans la mesure où cette valeur est inférieure à 20 CU, elle doit être classée comme négative. Si le résultat d'un patient est supérieur à 429,4 CU, le système BIO-FLASH indique « > 429,4 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 429,4 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. Le résultat doit être classé comme positif.

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 ENA7. 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 de LED, ScS, SSj, PM ou MCTD sont négatifs aux anticorps anti-ENA7.
2. Les résultats de ce test doivent être utilisés conjointement aux résultats cliniques et à d'autres examens sérologiques.
3. Si les billes revêtues d'ENA7 ne sont pas correctement remises en suspension, les valeurs risquent d'être inférieures à celles obtenues avec des billes correctement remises en suspension.
4. Les caractéristiques de performances de ce test n'ont pas été établies pour d'autres matrices que le sérum.

Valeurs attendues

Pour déterminer les valeurs attendues, le sérum de 196 donneurs semblant en bonne santé a été analysé. La moyenne était < 9,1 CU et l'IC à 95 % était compris entre 5,65 et 12,49 CU.

Traçabilité

Il n'existe aucun ensemble de sérums de référence international permettant de standardiser les tests des anticorps anti-ENA7. Le sérum de référence du CDC (Center of Disease Control and Prevention) pour les anticorps anti-ENA a été testé et les concentrations déterminées sont présentées ci-dessous.

ID CDC	ID Inova	Résultat	Attendu pour ENA7
IS2072	CDC~ANA~1	Négatif	ANA fluorescence (motif homog./ rebord ; anti-ADN natif/ADNs)
IS2073	CDC~ANA~2	Positif	ANA fluorescence ANA (motif moucheté) ; anti-SS-B/La
IS2074	CDC~ANA~3	Positif	ANA fluorescence ANA (motif moucheté)
IS2075	CDC~ANA~4	Positif	Anti-U1 RNP (RNP nucléaire)
IS2076	CDC~ANA~5	Positif	Anti-Sm
IS2100	CDC~ANA~6	Négatif	FANA motif nucléaire ; anti-fibrillarine (U3 RNP)
IS2105	CDC~ANA~7	Positif	Anti-SS-A/Ro
IS2134	CDC~ANA~8	Négatif	FANA motif centromère
IS2135	CDC~ANA~9	Positif	Anti-Scl-70 (ADN topoisomérase I)
IS2187	CDC~ANA~10	Positif	Anti-Jo1 (histidyl-ARNt synthétase)
IS2310	CDC~ANA~11	Négatif	Anti-PM/Scl
IS2706	CDC~ANA~12	Négatif	Anti-ribosome P

Sensibilité et spécificité cliniques

L'étude de validation clinique comprenait 261 LED, 68 ScS, 31 PM, 13 dermatomyosites, 12 MCTD, 65 SSj, 102 autres maladies du tissu conjonctif et 698 contrôles issus de patients atteints d'autres maladies, comme indiqué ci-après. Les résultats de ce test sont présentés ci-dessous :

Patients (n = 1250)		LED, ScS, SSj, PM, DM, UCTD, MCTD			Pourcentage de concordance (confiance à 95 %)
		Positif	Négatif	Total	
QUANTA Flash® ENA 7 CIA	Positif	349	57	406	Sensibilité = 63,2 % (59,0 - 67,3 %)
	Négatif	203	641	844	Spécificité = 91,8 % (89,5 - 93,8 %)
	Total	552	698	1250	

Sensibilité clinique chez la population cible

Cohorte avec diagnostic clinique	n =	Nb de positifs	Sensibilité
Lupus érythémateux disséminé (LED)	261	166	63,6 %
Sclérodémie systémique (ScS)	68	39	57,4 %
Polymyosite (PM)	31	16	51,6 %
Dermatomyosite (DM)	13	7	53,8 %
Connectivite mixte (MCTD)	12	10	83,3 %
Syndrome de Sjögren (SSj)	65	55	84,6 %
Autres maladies du tissu conjonctif*	102	56	54,9 %
Total d'échantillons des maladies du tissu conjonctif	552	349	63,2 %

* Autres maladies du tissu conjonctif : maladies du tissu conjonctif non différenciées (74), myosite (9), et syndrome de chevauchement de PM ou DM (19)

Spécificité clinique chez la population cible

Échantillons de maladies autres que celles des tissus conjonctifs	n =	Nb de positifs	Spécificité
Polyarthrite rhumatoïde (PR)	132	10	92,4 %
Arthrose	50	2	96,0 %
Autres arthrites*	48	1	97,9 %
Cirrhose biliaire primitive (PBC)	52	10	80,8 %
Maladie de Crohn	20	1	95,0%
Rectocolite ulcéro-hémorragique	20	2	90,0%
Thyroïdite de Hashimoto (TH)	21	1	95,2 %
Maladie de Basedow (MB)	21	0	100,0 %
Polyangéite (vascularite)	75	9	88,0 %
Syndrome primaire des antiphospholipides (SPAP)	52	11	78,8 %
Maladie cœliaque (MC)	63	5	92,1 %
Hépatite chronique active auto-immune (HAI)	50	5	90,0 %
Maladie infectieuse [†]	94	0	100,0%
TOTAL des contrôles autres maladies	698	57	91,8%

* Autres arthrites : pseudoarthrite rhizomélique (21), arthrite psoriasique (14) et spondylarthrite ankylosante(13) † Maladies infectieuses : hépatite B (36), hépatite C (44), virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (7), syphilis (7)

Comparaison des méthodes avec dispositif de référence

L'analyse de comparaison des méthodes comportait 747 échantillons issus des études de validation clinique. Ces échantillons ont été testés avec le test QUANTA Flash ENA7 et le test ELISA de prédiction.

Comparaison des méthodes (N=747)		QUANTA Lite [®] ENA6 ELISA			Pourcentage de concordance (confiance à 95 %)
		Positif	Négatif	Total	
QUANTA Flash [®] ENA7 CIA	Positif	235	29	264	Concordance pos. = 91,1 % (86,9-94,3 %)
	Négatif	23	460	483	Concordance nég. = 94,1 % (91,6-96,0 %)
	Total	258	489	747	Concordance générale = 93,0 % (91,0-94,8 %)

Précision et reproductibilité

La précision du test QUANTA Flash ENA7 a été évaluée en analysant les échantillons de 8 patients, conformément au document EP12-A du CLSI. Les données sont résumées ci-dessous :

Échantillon	n	Moyenne (CU)	Résultat Attendu	% pPositif	% négatif	Plage de résultats (CU)
Pt 1	80	7,9	Négatif	0 %	100 %	7,0 – 8,8
Pt 2	80	19,1	Négatif	37,5 %	62,5 %	16,1 - 21,4
Pt 3	80	19,8	Négatif	40,0 %	60,0 %	17,9 - 21,6
Pt 4	80	30,1	Positif	100 %	0 %	20,6 - 33,1
Pt 5	80	42,9	Positif	100%	0%	38,9 - 47,7
Pt 6	80	100,9	Positif	100%	0%	91,2 - 115,2
Pt 7	80	207,8	Positif	100 %	0 %	184,8 - 226,1
Pt 8	80	386,8	Positif	100 %	0 %	352,9 – 429,4

Interférences

Les échantillons contenant jusqu'à 10 mg/dL de bilirubine, 200 mg/dL d'hémoglobine, 1000 mg/dL de triglycérides, 224 mg/dL de cholestérol ou 500 UI/mL de facteur rhumatoïde IgM ont produit une interférence avec le test QUANTA Flash ENA7 inférieure ou égale à 15 %.

QUANTA Flash® ENA7

Calibrators

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

REF

701256

Rx Only

Utilisation prévue

Les étalons QUANTA Flash ENA7 sont conçus pour être utilisés avec les réactifs QUANTA Flash ENA7 pour le dépistage qualitatif des auto-anticorps IgG anti-Sm, RNP, Ro60 (SS-A), Ro52/TRIM21, SS-B (La), Scl-70 (topoisomérase I) et Jo-1 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 test CIA QUANTA Flash ENA7 utilise une courbe maîtresse prédéfinie spécifique au lot, stockée dans le code-barres de la cartouche de réactifs. Les étalons QUANTA Flash ENA7 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 ENA7. Avant l'affectation de valeurs, les étalons sont testés sur plusieurs appareils et avec plusieurs lots de réactifs.

Réactifs

1. QUANTA Flash ENA7 Calibrators 1 (Étalons) : Deux (2) tubes à code-barres de 0,7 mL, prédilué, prêt à l'emploi. Étalons contenant des anticorps humains anti-ENA7 dans un tampon, stabilisateurs de protéine et conservateurs.
2. QUANTA Flash ENA7 Calibrator 2 (Étalon) : Deux (2) tubes à code-barres de 0,7 mL, prédilué, prêt à l'emploi. Étalons contenant des anticorps humains anti-ENA7 dans un tampon, stabilisateurs de protéine et 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 ENA7 doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.⁸
4. Utiliser un équipement de protection personnelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.

5. Les élaboussures 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 étalons QUANTA Flash ENA7 doivent être utilisés avec le test QUANTA Flash ENA7.
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 ou 4 étalonnages 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 à bord de l'appareil sans bouchon.

Mode opératoire

- a. Chaque nouveau lot de cartouches de réactifs doit être étalonné avant la première utilisation. Le logiciel ne permet pas d'utiliser un nouveau lot avant qu'il ne soit étalonné.
2. Chaque étalon doit être mélangé délicatement avant utilisation pour garantir son homogénéité. Éviter la formation de mousse car les bulles peuvent interférer avec la détection du niveau de liquide des appareils. Retirer le capuchon de chaque tube d'étalon et placer ce dernier dans un portoir d'échantillons, les codes-barres pointant à travers les espaces du portoir. Placer le portoir d'échantillons dans le carrousel de l'appareil BIO-FLASH et fermer la porte. L'appareil lit les codes-barres sur les tubes d'étalons, puis identifie la cartouche de réactifs à utiliser. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH.
 3. L'appareil analyse chaque étalon en triple. Une fois les étalons analysés, le logiciel doit valider l'étalonnage. À l'écran **Instrument Summary**, cliquer sur le bouton fléché **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Sélectionner **Calibration Ctrl-F3**. Dans la fenêtre Calibration, mettre le test souhaité en surbrillance, puis cliquer sur **Details**.
 4. Dans la nouvelle fenêtre **Calibration Details**, sélectionner l'étalonnage qui vient d'être effectué. La courbe maîtresse apparaît en lignes pointillées, alors que la courbe d'étalonnage est représentée par une ligne pleine. Si les résultats de l'étalonnage sont valides, un bouton de validation apparaît dans l'angle inférieur gauche de l'écran. Cliquer sur le bouton **Validate Calibration**.
 5. Une fois l'étalonnage validé, le lot de cartouches de réactifs en ayant fait l'objet est prêt à l'emploi. Il est recommandé de tester les contrôles QUANTA Flash ENA7 (vendus séparément sous la référence 701257) après avoir étalonné un lot de cartouches de réactifs.

Traçabilité

Il n'existe aucun ensemble de sérums de référence international permettant de standardiser les tests des anticorps anti-ENA7. Le sérum de référence du CDC (Center of Disease Control and Prevention) pour les anticorps anti-ENA a été testé et les concentrations déterminées sont présentées ci-dessous.

ID CDC	ID Inova	Résultat	Attendu pour ENA7
IS2072	CDC~ANA~1	Négatif	ANA fluorescence (motif homog./ rebord ; anti-ADN natif/ADNds)
IS2073	CDC~ANA~2	Positif	ANA fluorescence ANA (motif moucheté) ; anti-SS-B/La
IS2074	CDC~ANA~3	Positif	ANA fluorescence ANA (motif moucheté)
IS2075	CDC~ANA~4	Positif	Anti-U1 RNP (RNP nucléaire)
IS2076	CDC~ANA~5	Positif	Anti-Sm
IS2100	CDC~ANA~6	Négatif	FANA motif nucléaire ; anti-fibrillarine (U3 RNP)
IS2105	CDC~ANA~7	Positif	Anti-SS-A/Ro
IS2134	CDC~ANA~8	Négatif	FANA motif centromère
IS2135	CDC~ANA~9	Positif	Anti-Scl-70 (ADN topoisomérase I)
IS2187	CDC~ANA~10	Positif	Anti-Jo1 (histidyl-ARNt synthétase)
IS2310	CDC~ANA~11	Négatif	Anti-PM/Scl
IS2706	CDC~ANA~12	Négatif	Anti-ribosome P

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. Au-delà, ils doivent être éliminés. L'utilisation du même tube d'étalon pendant plus de 8 heures peut entraîner un mauvais étalonnage du test et donc fournir des résultats erronés.

Controls

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

REF

701257

Rx Only

Utilisation prévue

Les contrôles QUANTA Flash ENA7 sont conçus pour être utilisés avec les réactifs QUANTA Flash ENA7 pour le contrôle qualité du dépistage qualitatif des auto-anticorps IgG anti-Sm, RNP, Ro60 (SS-A), Ro52/TRIM21, SS-B (La), Scl-70 (topoisomérase I) et Jo-1 dans le sérum humain.

Résumé et principes du test

Les contrôles QUANTA Flash ENA7 se composent d'un contrôle négatif et d'un contrôle positif. Chacun contient une quantité différente d'anticorps anti-ENA7. Le contrôle négatif est conçu pour évaluer la précision 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™ ENA7 Negative Control (Contrôle négatif) : Deux (2) tubes à code-barres contenant 0,5 mL de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps humains anti-ENA7 dans un tampon, stabilisateurs et conservateurs.
2. QUANTA Flash™ ENA7 Positive Control (Contrôle positif) : Deux (2) tubes à code-barres contenant 0,5 mL de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps humains anti-ENA7 dans un tampon, stabilisateurs et conservateurs.

Avertissements

1. Les contrôles 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 contrôles QUANTA Flash ENA7 doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.⁸
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 contrôles QUANTA Flash ENA7 doivent être utilisés avec le test QUANTA Flash ENA7.
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 l'intérieur 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 ENA7 :

1. Avant d'utiliser des contrôles QUANTA Flash ENA7 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 ENA7 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 contrôles QUANTA Flash ENA7 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 ENA7 en surbrillance dans la colonne de gauche. Ensuite, mettre le matériau de contrôle approprié en surbrillance à droite (« ENA7N » pour le contrôle négatif ou « ENA7P » pour le contrôle positif). Cliquer sur le bouton **New QC Lot**.

- 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 ENA7 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 ENA7 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 ensemble de sérums de référence international permettant de standardiser les tests des anticorps anti-ENA7. Le sérum de référence du CDC (Center of Disease Control and Prevention) pour les anticorps anti-ENA a été testé et les concentrations déterminées sont présentées ci-dessous.

ID CDC	ID Inova	Résultat	Attendu pour ENA7
IS2072	CDC~ANA~1	Négatif	ANA fluorescence (motif homog./ rebord ; anti-ADN natif/ADNds)
IS2073	CDC~ANA~2	Positif	ANA fluorescence ANA (motif moucheté) ; anti-SS-B/La
IS2074	CDC~ANA~3	Positif	ANA fluorescence ANA (motif moucheté)
IS2075	CDC~ANA~4	Positif	Anti-U1 RNP (RNP nucléaire)
IS2076	CDC~ANA~5	Positif	Anti-Sm
IS2100	CDC~ANA~6	Négatif	FANA motif nucléaire ; anti-fibrillarine (U3 RNP)
IS2105	CDC~ANA~7	Positif	Anti-SS-A/Ro
IS2134	CDC~ANA~8	Négatif	FANA motif centromère
IS2135	CDC~ANA~9	Positif	Anti-Scl-70 (ADN topoisomérase I)
IS2187	CDC~ANA~10	Positif	Anti-Jo1 (histidyl-ARNt synthétase)
IS2310	CDC~ANA~11	Négatif	Anti-PM/Scl
IS2706	CDC~ANA~12	Négatif	Anti-ribosome P

Restrictions

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. Mahler M, Fritzler MJ: **Epitope specificity and significance in systemic autoimmune diseases.** *Ann N Y Acad Sci* 2010; **1183**:267-287.
2. Copple SS, Sawitzke AD, Wilson AM, Tebo AE, Hill HR et al.: **Enzyme-linked immunosorbent assay screening then indirect immunofluorescence confirmation of antinuclear antibodies: a statistical analysis.** *Am J Clin Pathol* 2011; **135**:678-684.
3. Fritzler MJ: **The antinuclear antibody test: last or lasting gasp?** *Arthritis Rheum* 2011; **63**:19-22.
4. Mahler M: **Sm peptides in differentiation of autoimmune diseases.** *Adv Clin Chem* 2011; **54**:109-128.
5. Hudson M, Pope J, Mahler M, Tatibouet S, Steele R, Baron M; Canadian Scleroderma Research Group (CSRG), Fritzler MJ: **Clinical significance of antibodies to Ro52/TRIM21 in systemic sclerosis.** *Arthritis Res Ther* 2012; **14**:R50.
6. Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M: **Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system.** *Autoimmun Rev* 2009; **8**:632-637.
7. Mahler M, Silverman ED, Schulte-Pelkum J, Fritzler MJ: **Anti-Scl-70 (topo-I) antibodies in SLE: Myth or reality?** *Autoimmun Rev* 2010; **9**:756-760.
8. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.** *Centers for Disease Control/National Institute of Health*, 2009, **Fifth Edition**.

Symboles utilisés



Dispositif médical de diagnostic *In Vitro*



Consultez les instructions d'utilisation.



Limite de température



Ne pas réutiliser



Risques biologiques



Code du lot



Référence catalogue



Date de péremption



Fabricant



Représentant autorisé



Contenu suffisant pour < n > tests



Contrôle positif



Contrôle négatif



Calibrator 1



Calibrator 2



Carton en papier recyclable



Haut

QUANTA Flash est une marque déposée d'Inova Diagnostics Inc. BIO-FLASH est une marque déposée de Biokit S.A. © 2015

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

621255FRA

Juin 2015
Révision 3

