

Reagents

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

REF

701298

Rx Only

Utilisation prévue

QUANTA Flash LKM-1 est un dosage immunologique par chimiluminescence pour la mesure semi-quantitative des anticorps IgG anti-microsomes du foie/rein de type 1 dans le sérum humain. La présence de ces anticorps anti-microsomes du foie/rein de type 1 peut être utilisée en association avec des résultats cliniques et d'autres tests de laboratoire pour faciliter le diagnostic de l'hépatite auto-immune de type 2.

Résumé et explication du test

L'hépatite auto-immune (HAI) est une maladie du foie chronique et évolutive, dont l'étiologie est inconnue, qui se caractérise par une inflammation périportale dans le foie et des taux élevés d'immunoglobulines et d'auto-anticorps.¹⁻³ L'hépatite auto-immune de type 1 (HAI-1) est le type de HAI le plus courant, qui se caractérise par la présence d'anticorps anti-nucléaires (ANA) et/ou une réactivité des anticorps anti-muscle lisse (SMA) et anti-antigènes de l'actine. L'hépatite auto-immune de type 2 (HAI-2) est associée à la présence d'anticorps anti-microsomes du foie/rein (LKM-1). La réactivité des LKM-1 se caractérise par la coloration du cytoplasme des hépatocytes et des tubules rénaux proximaux, mais pas distaux sur des coupes de tissu de rein et de foie de rongeur par immunofluorescence indirecte. Le principal antigène cible des anticorps anti-LKM-1 a été identifié comme étant le cytochrome P450 2D6, une protéine microsomale présente dans le réticulum endoplasmique.¹⁻³

Les anticorps anti-LKM-1 ont également été signalés chez des patients souffrant d'une infection chronique par le virus de l'hépatite C (VHC).^{4,5} Une infection par l'hépatite virale, en particulier le VHC, doit être exclue pour le diagnostic de la HAI-2.

Outre les anticorps anti-LKM-1, des anticorps anti-uridine diphosphate glucuronosyltransférase (LKM-3) (également associés à l'infection par l'hépatite D) et des anticorps anti-cytosol du foie de type 1 (LC1) ou anti-antigènes solubles du foie/foie-pancréas (anti-SLA/LP) peuvent également être présents chez certains patients HAI-2.⁶

Principes du test

L'antigène cytochrome P450 2D6 recombinant (LKM-1) est enduit sur des billes paramagnétiques, stockées sous forme lyophilisée dans la cartouche de réactifs. Lorsque la cartouche de test est prête à être utilisée pour la première fois, une solution tampon est ajoutée au tube contenant les billes pour les remettre en suspension avec le tampon. La cartouche de réactifs est ensuite chargée sur l'appareil BIO-FLASH.

À l'aide de la fonction de rinçage du système, l'appareil dilue selon un rapport 1:23 un échantillon de sérum de patient dans une cuvette en plastique jetable. Un échantillon de sérum patient dilué, les billes couplées aux LKM-1 et le tampon de dosage sont 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. L'anticorps IgG antihumain conjugué à l'isoluminol est ensuite ajouté à la cuvette et incubé à 37 °C. De nouveau, les billes sont magnétisées et lavées plusieurs fois. Le conjugué d'isoluminol produit une réaction lumineuse lorsque les réactifs « déclencheurs » sont ajoutés dans la cuvette. Le système optique BIO-FLASH mesure la lumière produite par cette réaction en unités relatives de lumière (RLU). Les valeurs de RLU sont proportionnelles à la quantité de

conjugué d'isoluminol lié, qui lui-même est proportionnel à la quantité d'anticorps anti-LKM-1 liée à l'antigène sur les billes.

Le test QUANTA Flash LKM-1 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 les 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 LKM-1 Reagent Cartridge contient les réactifs suivants pour 50 dosages :
 - a. Billes paramagnétiques enduites de LKM-1, lyophilisées.
 - b. Assay buffer : de couleur rose, contenant des stabilisateurs de protéines et des conservateurs.
 - c. Tracer IgG : anticorps IgG antihumain marqué à l'isoluminol, contenant du tampon, des stabilisateurs de protéines et un conservateur.
2. Resuspension buffer : transparent, contenant du tampon, des stabilisateurs de protéine et des conservateurs.

Avertissements

1. L'azoture de sodium est utilisé comme conservateur. Il s'agit d'un poison qui peut être toxique en cas d'ingestion ou d'absorption oculaire ou cutanée. Cette substance peut réagir avec les canalisations en plomb ou en cuivre pour former des azotures métalliques potentiellement explosifs. Rincer les éviers (s'ils sont utilisés pour éliminer le réactif) avec de grands volumes d'eau pour éviter l'accumulation d'azoture.
2. Utiliser un équipement de protection individuelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
3. Nettoyer immédiatement les éclaboussures de réactifs. Respecter toutes les législations environnementales nationales, régionales et locales relatives à l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est à usage diagnostique *in vitro*.
2. Ce test doit être utilisé uniquement 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 déversements de réactifs la première fois que la cartouche est placée dans l'appareil.
5. La contamination par produit chimique des réactifs peut être due à un nettoyage ou un rinçage incorrect 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 d'entreposage

1. Conserver les cartouches de réactifs non ouvertes et le tampon de remise en suspension à une température comprise 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 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 1 mg/ml de bilirubine, 2 mg/ml d'hémoglobine, 1 000 mg/dl de triglycérides, 332,5 mg/dl de cholestérol, 35 mg/ml d'IgG, 0,3 mg/l de prednisone, 2,99 mg/l d'azathioprine, 0,33 mg/l d'interféron alpha ou 153,4 UI/ml de facteur rhumatoïde IgM n'ont produit aucune interférence avec le test QUANTA Flash LKM-1.

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

Procédure

Matériel fourni

- 1 QUANTA Flash LKM-1 Reagent Cartridge
- 1 Resuspension Buffer 7
- 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 LKM-1 Calibrators (réf. : 701296)

QUANTA Flash LKM-1 Controls (réf. : 701297)

Utilisation de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH

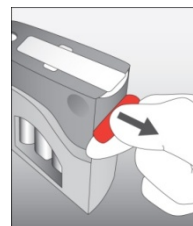
1. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH. Pour toute information complémentaire et pour résoudre les problèmes liés à ce test, contacter le service technique d'Inova Diagnostics, Inc. à l'adresse ou au numéro de téléphone indiqué à la fin de cette notice.
2. Pour vider le conteneur de déchets solides, ouvrir le tiroir à 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 à déchets et le retirer de l'appareil BIO-FLASH. Éliminer les cuvettes éventuellement présentes dans le tiroir à 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 des neufs. Veiller à remplacer 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. Click **Next**. Une fois le flacon vide remplacé, cliquer sur **Finish**.

Méthode

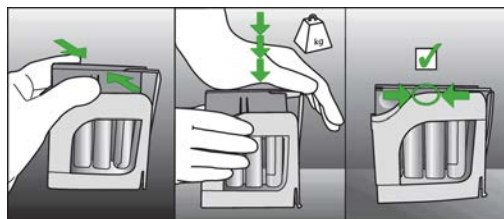
Préparation de la cartouche de réactifs

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

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



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



3. Remettre les microparticules de LKM-1 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.

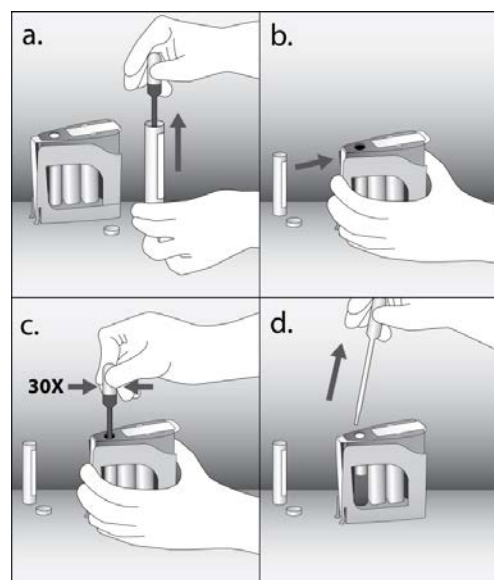
- b. Faire glisser le couvercle de la cartouche de réactifs en position ouverte en appuyant légèrement sur le côté étroit de la cartouche, tout en la maintenant dans cette position. Transférer avec précaution l'ensemble du contenu du flacon dans le tube de réactif à microparticules, à travers l'orifice unique situé en haut de la cartouche de réactifs.

- c. Mélanger le contenu du tube de réactif à microparticules en aspirant et en distribuant le liquide au moins 30 fois. Si des agrégats de billes sont visibles, continuer à mélanger la solution 30 fois supplémentaires. S'il est impossible de remettre les microparticules en suspension, **NE PAS UTILISER LA CARTOUCHE.**

- d. Veiller à distribuer tout le liquide avant de retirer la pipette du tube et de l'éliminer.

4. Retirer la pastille adhésive de la partie supérieure de la cartouche de réactifs pour faire apparaître les trois autres orifices.

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



Étalonnage du test

1. Chaque nouveau lot de cartouches de réactifs doit être étalonné avant la première utilisation. Le logiciel ne permet pas d'utiliser un nouveau lot avant qu'il ne soit étalonné.
2. Se reporter à la section intitulée **QUANTA Flash® LKM-1 Calibrators 701296** 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 concerné 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 LKM-1 dans le volet de dosages. Recommencer cette procédure 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 dans 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 QUANTA Flash LKM-1 Controls (vendus séparément sous la référence Inova 701297) contiennent à la fois des contrôles LKM-1 positifs et négatifs. Se reporter à la section intitulée **QUANTA Flash® LKM-1 Controls 701297** 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 d'utilisation du dosage. Les utilisateurs doivent toutefois tenir compte des exigences réglementaires nationales ou locales en vigueur.

Calcul des résultats

Une courbe maîtresse est générée par Inova pour chaque nouveau lot de QUANTA Flash LKM-1. 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-LKM-1 peut ensuite être classée selon le tableau ci-dessous.

<u>Réactivité</u>	<u>CU</u>
Négative	< 20
Positive	≥ 20

La réactivité en unités CU est directement liée au titre de l'auto-anticorps présent dans l'échantillon patient. Les augmentations et diminutions de concentrations d'auto-anticorps patients sont reflétées par les hausses et chutes correspondantes en unités CU, qui sont proportionnelles à la quantité d'anticorps.

La plage de mesure analytique du test s'étend de 1,6 CU à 400,0 CU. Si le résultat d'un patient est inférieur à 1,6 CU, le système BIO-FLASH indique « < 1,6 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 400,0 CU, le système BIO-FLASH indique « > 400,0 CU ». Ce résultat est considéré comme positif. Le logiciel BIO-FLASH possède une option de réexécution automatique. Si cette option est choisie, l'appareil recommence automatiquement le dosage d'un échantillon dont le résultat est supérieur à 400,0 CU, après avoir multiplié la dilution par 20 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 400,0 CU, la valeur la plus élevée pouvant être reportée est donc 8 000,0 CU.

Interprétation des résultats

Il est conseillé à chaque laboratoire de vérifier la plage de référence fournie par le fabricant et d'établir sa propre plage normale selon ses contrôles et son groupe de patients, mais aussi en fonction des procédures qu'il a établies.

Il est suggéré d'inclure la déclaration suivante aux résultats rapportés par le laboratoire : « Les résultats suivants ont été obtenus avec le test d'immunodosage par chimiluminescence Inova QUANTA Flash LKM-1. Les valeurs obtenues avec des méthodes de test de fabricants différents ne doivent pas être utilisées de façon interchangeable ».

Limites du test

1. Certains patients souffrant d'une hépatite auto-immune de type 2 (HAI-2) sont négatifs aux anticorps anti-LKM-1.
2. Les anticorps anti-LKM-1 peuvent être détectés chez un petit nombre de patients suite à une infection par le VHC, mais pas dans le cadre d'une HAI-2. Les échantillons positifs aux LKM-1 doivent subir un dépistage de l'infection par le VHC.^{4,5}
3. Les résultats de ce test doivent être utilisés conjointement aux résultats cliniques et à d'autres examens sérologiques.
4. Si les billes revêtues de LKM-1 ne sont pas correctement remises en suspension, les valeurs risquent d'être inférieures à celles obtenues avec des billes correctement remises en suspension.
5. Les caractéristiques de performance de ce test n'ont pas été établies pour des matrices autres que le sérum.

Seuil (plage de référence)

Le seuil du test a été déterminé à partir de 242 échantillons issus d'un groupe de patients de référence et comprenant 120 donneurs en bonne santé apparente, 30 patients atteints de maladies infectieuses, 20 patients atteints de maladie cœliaque, 31 patients présentant une polyarthrite rhumatoïde, 2 patients souffrant d'une myosite et 39 échantillons de patients souffrant d'une maladie du foie autre que HAI-2. Le seuil a été établi au 99^e centile des résultats obtenus pour les sujets de référence et des résultats des échantillons positifs aux anticorps anti-LKM-1 caractérisés afin de garantir une différenciation optimale entre les positifs et les négatifs. Il a été défini sur une valeur de 20 CU.

Valeurs attendues

La valeur attendue au sein de la population normale est « négative ». Les taux d'anticorps anti-LKM-1 ont été analysés à l'aide du QUANTA Flash LKM-1 sur un panel de 100 donneurs de sang apparemment sains (50 femmes/50 hommes, âgés de 17 à 57 ans, l'âge moyen et médian étant de 34 ans). Avec un seuil de 20 CU, tous les échantillons étaient négatifs avec le test QUANTA Flash LKM-1. La concentration moyenne était inférieure à 1,6 CU et les valeurs s'étendaient de < 1,6 à 3,6 CU.

Traçabilité

Il n'existe aucun sérum étalon international permettant de standardiser les tests des anticorps anti-LKM-1.

Sensibilité et spécificité cliniques

Au total, 633 échantillons ont été utilisés dans l'étude de validation clinique, y compris 26 échantillons de patients HAI-2 et 308 échantillons de contrôle de patients atteints de différentes maladies hépatiques et gastro-entérologiques, d'autres syndromes auto-immuns et de diverses maladies infectieuses.

Répartition des échantillons et taux de positivité des anticorps anti-LKM-1 dans l'étude de validation :

Groupe de patients	N	N positif	% positif
Hépatite auto-immune de type 1 (HAI-1)	51	0	0,0 %
Cirrhose biliaire primitive	75	0	0,0 %
Cholangite primitive sclérosante	33	0	0,0 %
Cancer du foie	10	0	0,0 %
Hépatite alcoolique	35	0	0,0 %
Maladie coéliquaue	43	0	0,0 %
Virus de l'hépatite B	31	0	0,0 %
Virus de l'hépatite C*	30	12	40,0%
Syphilis	10	0	0,0 %
Rectocolite ulcéro-hémorragique	26	0	0,0 %
Maladie de Crohn	14	0	0,0 %
Sclérodermie limitée	15	0	0,0 %
Dermatomyosite	7	0	0,0 %
Lupus érythémateux disséminé	33	0	0,0 %
Syndrome de Sjögren	4	0	0,0 %
Polymyosite	1	0	0,0 %
Maladie endocrinienne autoimmune	60	0	0,0 %
Polyarthrite rhumatoïde	30	0	0,0 %
Stéatose hépatique non associée à l'alcool	30	0	0,0 %
Maladies génétiques avec affections hépatiques	30	0	0,0 %
Lésions cutanées	30	0	0,0 %
Lésions au foie d'origine médicamenteuses	9	0	0,0 %
Total des contrôles	607	12	2,0%
Hépatite auto-immune de type 2 (HAI-2)	26	20	76,9%
Total	633	-	-

*La positivité des anticorps anti-LKM-1 a été décrite chez des patients souffrant d'une infection par le virus de l'hépatite C. Consulter également les rubriques Résumé et explication du test, et Limites du test.

La sensibilité et la spécificité cliniques du test QUANTA Flash LKM-1 ont été analysées dans le tableau ci-dessous :

Analyse clinique (N=633)		QUANTA Flash LKM-1			Analyse (confiance à 95 %)
		Positif	Négatif	Total	
Diagnostic	AIH-2	20	6	26	Sensibilité : 76,9% (56,4 - 91,0%)
	Contrôles	12	595	607	Spécificité : 98,0% (96,6 à 99,0%)
	Total	32	601	633	

Comparaison des méthodes avec dispositif de référence

Les échantillons utilisés dans l'analyse de comparaison des méthodes comprenaient 334 échantillons provenant de l'étude de validation clinique, ainsi que 10 échantillons poolés supplémentaires produisant des résultats en limite de seuil. Les échantillons ont été testés avec le test QUANTA Flash LKM-1 et le test ELISA de prédiction.

Sur les 344 échantillons, 109 résultats se trouvaient dans la plage de mesure analytique du test QUANTA Flash. Les résultats de l'analyse de comparaison ont été analysés de deux façons (échantillons de la plage équivoque du dispositif de référence considérés comme négatifs puis positifs) et indiqués dans les tableaux ci-dessous :

Comparaison des méthodes - Dans la plage de mesure analytique du dosage (N=109) Plage équi. du dispositif de réf. = Nég.		QUANTA Flash LKM-1			% concordance (confiance à 95 %)
		Négatif	Positif	Total	
ELISA de référence	Négatif	90	3	93	Conc. négative : 96,8 % (90,9 % à 98,9 %)
	Positif	1	15	16	Conc. positive : 93,8 % (71,7 % à 98,9 %)
	Total	91	18	109	Conc. totale : 96,3 % (90,9 % à 98,6 %)

Comparaison des méthodes - Dans la plage de mesure analytique du dosage (N=109) Plage équi. du dispositif de réf. = Pos.		QUANTA Flash LKM-1			% concordance (confiance à 95 %)
		Négatif	Positif	Total	
ELISA de référence	Négatif	86	1	87	Conc. négative : 98,9 % (93,8 % à 99,8 %)
	Positif	5	17	22	Conc. positive : 77,3 % (56,6 % à 89,9 %)
	Total	91	18	109	Conc. totale : 94,5 % (88,5 % à 97,5 %)

Fidélité et reproductibilité

La fidélité du test QUANTA Flash LKM-1 a été évaluée sur 8 échantillons contenant diverses concentrations d'anticorps anti-LKM-1, 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 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 LKM-1			Répétabilité		Inter-analyses		D'un jour à l'autre		Imprécision totale	
ID d'échantillon	N	Moyenne (CU)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)
1	80	9,2	0,59	6,4%	0,00	0,0 %	0,12	1,3%	0,60	6,5%
2	80	44,7	1,07	2,4%	1,62	3,6%	0,71	1,6%	2,07	4,6%
3	80	16,5	0,52	3,2%	0,00	0,0 %	0,38	2,3%	0,64	3,9%
4	80	17,5	0,42	2,4%	0,38	2,1%	0,26	1,5%	0,62	3,5%
5	80	14,7	0,29	2,0%	0,21	1,5%	0,55	3,8%	0,66	4,5%
6	80	101,1	2,01	2,0%	3,93	3,9%	2,23	2,2%	4,94	4,9%
7	80	201,4	7,21	3,6%	9,36	4,6%	12,4	6,2%	17,1	8,5%
8	80	353,7	16,6	4,7%	14,4	4,1%	17,9	5,1%	28,4	8,0%

La reproductibilité (entre laboratoires) du test QUANTA Flash LKM-1 a été évaluée sur 5 échantillons contenant diverses concentrations d'anticorps anti-LKM-1, conformément au document EP5-A3 du CLSI (Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Procedures - Approved Guideline). Les échantillons ont été analysés en 5 répétitions, une fois par jour pendant 5 jours, de façon à produire 25 points de données par échantillon, par site. La précision entre les sites a été calculée ; elle est résumée dans le tableau ci-dessous :

QUANTA Flash LKM-1			Précision entre sites (reproductibilité)	
ID d'échantillon	Nombre de répétitions	Moyenne (CU)	ET (CU)	CV (%)
1	75	10,7	0,84	7,8%
2	75	22,0	1,06	4,8%
3	75	30,1	1,69	5,6%
4	75	108,9	8,86	8,1%
5	75	343,2	15,8	4,6%

Plage de mesure analytique

La plage de mesure analytique du test s'étend de 1,6 CU à 400,0 CU. 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 présentant diverses concentrations en anticorps anti-LKM-1 ont été dilués en série pour obtenir des valeurs qui couvrent la plage de mesure analytique. Ces 5 échantillons ont présenté une linéarité de dilution individuelle et les données combinées ont produit les résultats suivants avec la régression linéaire :

ID d'échantillon	Plage de test (CU)	Pente (IC à 95 %)	R²
Tous	1,7 à 411,2	0,95 (0,94 à 0,97)	1,00

La limite de détection du test QUANTA Flash LKM-1 s'élève à 0,26 CU. Cette limite a été déterminée en accord avec la recommandation EP17-A2 du CLSI, avec une proportion de faux positifs (alpha) inférieure à 5 % et de faux négatifs (bêta) inférieure à 5 % ; d'après la réalisation de 240 dosages, avec 60 mesures sur des blancs et 60 mesures sur des échantillons à faible concentration par lot. La limite du blanc est de 0,14 CU.

La limite de quantification du test QUANTA Flash LKM-1 s'élève à 1,6 CU et a été déterminée en accord avec la recommandation EP17-A2 du CLSI, d'après 120 déterminations, avec 60 mesures d'échantillons présentant un faible taux par lot et un objectif d'erreur totale de 25 %. La limite de quantification a été définie comme limite inférieure de la plage de mesure analytique.

QUANTA Flash® LKM-1

Calibrators

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

REF

701296

Rx Only

Utilisation prévue

Les QUANTA Flash LKM-1 Calibrators sont conçus pour une utilisation avec les QUANTA Flash LKM-1 Reagents pour le dosage des autoanticorps IgG anti-LKM-1 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

L'immunodosage par chimiluminescence (CIA) QUANTA Flash LKM-1 utilise une courbe maîtresse prédéfinie spécifique au lot, stockée dans le code-barres de la cartouche de réactifs. Les étalons QUANTA Flash LKM-1 Calibrators sont destinés à produire une courbe d'étalonnage spécifique à l'appareil à partir des paramètres de la courbe maîtresse, le point de décision reposant sur les caractéristiques de performance et l'évaluation clinique du test CIA QUANTA Flash LKM-1. Avant l'affectation de valeurs, les étalons sont testés sur plusieurs appareils et avec plusieurs lots de réactifs.

Réactifs

1. QUANTA Flash LKM-1 Calibrator 1 : deux (2) tubes à code-barres étiquetés contenant 0,3 ml de réactif prédilué, prêt à l'emploi. Étalons contenant des anticorps humains anti-LKM-1 dans des stabilisateurs et des conservateurs.
2. QUANTA Flash LKM-1 Calibrator 2 : deux (2) tubes à code-barres étiquetés contenant 0,3 ml de réactif prédilué, prêt à l'emploi. Étalons contenant des anticorps humains anti-LKM-1 dans des stabilisateurs et des conservateurs.
3. QUANTA Flash LKM-1 Calibrator 3 : deux (2) tubes à code-barres étiquetés contenant 0,3 ml de réactif prédilué, prêt à l'emploi. Étalons contenant des anticorps humains anti-LKM-1 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 l'absence de VIH, de VHB et de VHC ou d'autres agents infectieux. Les QUANTA Flash LKM-1 Calibrators doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.⁷
2. Utiliser un équipement de protection individuelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
3. Nettoyer immédiatement les éclaboussures de réactifs. Respecter toutes les législations environnementales nationales, régionales et locales relatives à l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est à usage diagnostique *in vitro*.
2. Les QUANTA Flash LKM-1 Calibrators doivent être utilisés avec le test QUANTA Flash LKM-1.
3. Ne pas transférer les réactifs d'étalons dans des tubes secondaires. L'appareil utilise les codes-barres apposés sur les tubes pour mettre en correspondance les étalons avec le type de test approprié.
4. Une fois le tube d'étalon ouvert, il est utilisable jusqu'à 8 heures 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 incorrect 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 d'entreposage

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.

Procédure

1. Chaque nouveau lot de cartouches de réactifs doit être étalonné avant la première utilisation. Le logiciel ne permet pas d'utiliser un nouveau lot avant qu'il ne soit étalonné.
2. Chaque étalon doit être mélangé délicatement avant utilisation pour garantir son homogénéité. Éviter la formation de mousse car les bulles peuvent interférer avec la détection du niveau de liquide des appareils. Retirer le capuchon de chaque tube d'étalon et placer chacun d'eux 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 de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH.
3. L'appareil analyse chaque étalon en double. 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 concerné est prêt à l'emploi. Il est recommandé de tester les QUANTA Flash LKM-1 Controls (vendus séparément sous la référence 701297) après avoir étalonné un lot de cartouches de réactifs.

Traçabilité

Il n'existe aucun sérum étalon international permettant de standardiser les tests des anticorps anti-LKM-1.

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. Si les étalons sont laissés sans capuchon à l'intérieur du système pendant plus longtemps, 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 CLIA : modérée

REF

701297

Rx Only

Utilisation prévue

Les QUANTA Flash LKM-1 Controls sont conçus pour une utilisation avec les QUANTA Flash LKM-1 Reagents pour le contrôle qualité lors du dosage des auto-anticorps IgG anti-LKM-1 dans le sérum humain.

Résumé et principes du test

Les QUANTA Flash LKM-1 Controls se composent d'un contrôle négatif et d'un contrôle positif. Chacun contient une quantité différente d'anticorps anti-LKM-1. Les contrôles négatif et positif sont utilisés pour surveiller les performances analytiques du test CIA QUANTA Flash LKM-1.

Réactifs

1. QUANTA Flash LKM-1 Negative Control : deux (2) tubes à code-barres contenant 0,5 ml de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps humains anti-LKM-1 dans des stabilisateurs et des conservateurs.
2. QUANTA Flash LKM-1 Positive Control : deux (2) tubes à code-barres contenant 0,5 ml de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps humains anti-LKM-1 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 l'absence de VIH, de VHB et de VHC ou d'autres agents infectieux. Les QUANTA Flash LKM-1 Controls doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.⁷
2. Utiliser un équipement de protection individuelle approprié pour travailler avec les réactifs fournis.
3. Nettoyer immédiatement les éclaboussures de réactifs. Respecter toutes les législations environnementales nationales, régionales et locales relatives à l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce produit est à usage diagnostique *in vitro*.
2. Les QUANTA Flash LKM-1 Controls doivent être utilisés avec le test QUANTA Flash LKM-1.
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 incorrect 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 d'entreposage

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 ouverts peuvent être utilisés jusqu'à 15 fois, avec une durée moyenne à bord de l'appareil de 10 minutes par utilisation. Le temps total pendant lequel les tubes de contrôles peuvent rester sans capuchon à l'intérieur de l'appareil ne doit pas dépasser 2 heures et 30 minutes. Si les contrôles sont laissés ouverts à bord de l'appareil pour une durée totale de plus de 2 heures et demie, 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

Pour créer de nouveaux matériels CQ pour le test LKM-1 :

1. Avant d'utiliser des QUANTA Flash LKM-1 Controls pour la première fois sur l'appareil, 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 **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 LKM-1 dans la liste, puis cliquer sur **Add**. Pour finir, saisir la dose cible et l'écart type cible. Cliquer sur **Save**. Effectuer cette procédure pour les deux contrôles.

Créer un nouveau lot de matériels CQ existants :

1. Avant d'utiliser un nouveau lot de QUANTA Flash LKM-1 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 LKM-1 en surbrillance dans la colonne de gauche. Ensuite, mettre le matériel de contrôle approprié en surbrillance à droite (« LKM1N » pour le contrôle négatif ou « LKM1P » 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. Saisir 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 LKM-1 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 LKM-1 Controls une fois par jour où le test est utilisé.

Chaque contrôle doit être mélangé délicatement avant utilisation pour garantir son homogénéité. Éviter la formation de mousse car les bulles peuvent interférer avec la détection du niveau de liquide des appareils. Retirer le capuchon de chaque tube de contrôle et les placer tous les deux dans un

portoir d'échantillons, les codes-barres pointant à travers les espaces du portoir. Placer le portoir d'échantillons dans le carrousel de l'appareil BIO-FLASH et fermer la porte. L'appareil lit les codes-barres sur les tubes de contrôle puis identifie la cartouche de réactifs à utiliser. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur de chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH.

Traçabilité

Il n'existe aucun sérum étalon international permettant de standardiser les tests des anticorps anti-LKM-1.

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. Si les contrôles sont laissés ouverts à bord de l'appareil pour une durée plus longue, ils doivent être éliminés.

Références

1. Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, Vierling JM; **American Association for the Study of Liver Diseases. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis.** *Hepatology*. 2010 Jun;51(6):2193-213.
2. Makol A, Watt KD, Chowdhary VR. **Autoimmune hepatitis: a review of current diagnosis and treatment.** *Hepat Res Treat*. 2011;2011:390916. doi: 10.1155/2011/390916.
3. McFarlane IG. **The Relationship between autoimmune markers and different clinical syndromes in autoimmune hepatitis.** *Gut* 42: 599-602, 1998.
4. Gregorio GV, Pensati P, Iorio R, Vegnente A, Mieli-Vergani G and Vergani D. **Autoantibody prevalence in children with liver disease due to chronic hepatitis C virus (HCV) infection.** *Clin. Exp. Immunol.* **112(3)**: 471-6, 1998.
5. Dalekos GN, Wedemeyer H, Obermayer-Straub P, Kayser A, Barut A, Frank H and Manns MP. **Epitope mapping of cytochrome P450 2D6 autoantigen in patients with chronic hepatitis C during alpha-interferon treatment.** *J. Hepatol.* **30(3)**:366-375, 1999.
6. Manns MP and Obermayer-Straub P. **Cytochromes P450 and uridine triphosphate-glucuronosyltransferases: model autoantigens to study drug-induced, virus-induced, and autoimmune liver disease.** *Hepatology* **26(4)**:1054-1066, 1997.
7. **Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) 5th Edition.** Centers for Disease Control/National Institute of Health, 2009.

Symboles utilisés



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Conformité aux normes européennes



Consulter les instructions d'utilisation



Fabricant



Limite de température



Contenu suffisant pour < n > tests



Ne pas réutiliser



Contrôle positif



Risques biologiques



Contrôle négatif



Code du lot



Étalon 1



Référence catalogue



Étalon 2



Date de péremption



Étalon 3



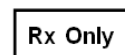
Haut



Carton en papier recyclable



Représentant autorisé



Uniquement sur ordonnance selon la FDA américaine

QUANTA Flash est une marque déposée d'Inova Diagnostics Inc. BIO-FLASH est une marque déposée de Biokit S.A. © 2017

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

621295FR

Octobre 2017
Révision 2

