

Reagents

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

REF

701333

Rx Only

Utilisation prévue

QUANTA Flash HMGCR est un immunodosage par chimiluminescence pour la détermination semi-quantitative des auto-anticorps IgG contre l'antigène HMGCR (3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A réductase) dans le sérum humain. La présence de ces anticorps anti-HMGCR peut être utilisée en association avec des résultats cliniques et d'autres tests de laboratoire pour faciliter le diagnostic de la myopathie auto-immune (MAI).

Résumé et explication du test

Les auto-anticorps anti-3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A réductase (HMGCR) sont présents chez un sous-groupe de patients souffrant de myopathies auto-immunes (MAI)¹. Dans l'étude d'origine, qui a identifié ces auto-anticorps, 16 des 17 patients positifs aux anticorps présentaient des myopathies nécrosantes à médiation auto-immune (IMNM)². La présence des anticorps anti-HMGCR est associée, mais pas limitée, à une exposition à la statine.

Une étude multicentrique à grande échelle internationale en lien avec les anticorps anti-HMGCR a été menée récemment. Les anticorps anti-HMGCR étaient principalement présents chez les patients souffrant d'IMNM (31 patients sur 69, 44,9 %), puis chez les patients souffrant de dermatomyosite juvénile (DMJ) (3 sur 45, 6,7 %), de polymyosite (PM) (18 sur 406, 4,4 %) et enfin de dermatomyosite (DM) (10 sur 525, 1,9 %). Seuls deux échantillons issus de contrôles de référence de la maladie (un syndrome de Sjögren primitif (SSp) et un lupus érythémateux disséminé [LED]) se sont révélés positifs aux anticorps anti-HMGCR, entraînant donc un haut niveau de spécificité pour la maladie (99,7 %). Parmi tous les patients testés positifs aux anticorps anti-HMGCR, 31 (48,4 %) ont été diagnostiqués positifs à une IMNM, 18 (28,1 %) souffraient d'une polymyosite (PM), 10 (15,6 %) souffraient d'une dermatomyosite (DM), 3 (4,7 %) souffraient d'une DM juvénile (DMJ), un (1,6 %) était atteint du syndrome de Sjögren's primitif et un (1,6 %) souffrait d'un lupus érythémateux disséminé³.

Principes du test

L'antigène HMGCR (3-hydroxy-3-méthylglutaryl coenzyme A réductase) est revêtu sur des billes paramagnétiques, stockées sous forme lyophilisée dans la cartouche de réactifs. Lorsque la cartouche de dosage 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.

L'appareil dilue un échantillon de sérum patient dans une cuvette en plastique jetable selon le rapport 1:17. Un échantillon de sérum patient dilué, les billes couplées au HMGCR 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 de luminescence relatives (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-HMGCR liée à l'antigène sur les billes.

Le dosage QUANTA Flash HMGCR 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 HMGCR Reagent Cartridge contient les réactifs suivants pour 50 déterminations :
 - a. Billes paramagnétiques enduites de HMGCR, lyophilisées.
 - b. Assay buffer : de couleur rose, contenant des stabilisants de protéines et des conservateurs.
 - c. Tracer IgG : anticorps IgG antihumain marqué à l'isoluminol, contenant un tampon, des stabilisants de protéines et un conservateur.
2. Resuspension buffer, 1 flacon : transparent, contenant un tampon, des stabilisants de protéines 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 dosage 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 déversements de réactifs la première fois que la cartouche de réactifs est placée dans l'appareil.
5. La contamination par substance chimique des réactifs peut être due à un nettoyage ou un rinçage incorrect de l'appareil. Les résidus de substances chimiques courants en laboratoire, tels que le formaldéhyde, l'eau de Javel, l'éthanol ou les détergents, peuvent provoquer des interférences avec le dosage. 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 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 un échantillon 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, 333 mg/dl de cholestérol, 35 mg/ml d'IgG, 153 UI/ml de facteur rhumatoïde IgM, 600 ng/ml d'atorvastatine, 600 ng/ml de simvastatine, 0,72 mg/ml de coenzyme Q, 24 µg/ml de pyrroloquinoléine quinone ou 36 µg/ml de méthylprednisolone n'ont produit aucune interférence avec le dosage QUANTA Flash HMGCR.

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 dosage 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 HMGCR 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 HMGCR Calibrators (réf. : 701331)

QUANTA Flash HMGCR Controls (réf. : 701332)

Utilisation de l'analyseur par chimiluminescence BIO-FLASH

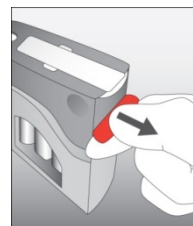
1. Consulter le manuel de l'utilisateur joint au système BIO-FLASH pour obtenir des instructions détaillées sur le fonctionnement de l'analyseur par chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH. Pour toute information complémentaire et pour résoudre les problèmes liés à ce dosage, contacter le 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 de déchets. Retirer le conteneur et jeter les cuvettes usagées. Remettre le conteneur de déchets solides en place, fermer le tiroir de déchets, puis cliquer sur **Yes** dans la fenêtre **Empty Waste Drawer**.
3. Pour remplacer les déclencheurs, cliquer sur le bouton **Bulks Inventory F9** (en haut à droite).
 - a. À l'écran **Inventory – Bulks**, cliquer sur le bouton **Triggers** à gauche. Une nouvelle fenêtre, intitulée **Add Triggers – Remove old bottles** apparaît.
 - b. Ouvrir le tiroir de déchets et le retirer de l'appareil BIO-FLASH. Éliminer les cuvettes éventuellement présentes dans le tiroir de déchets secs. Cliquer sur **Yes** dans la fenêtre **Empty Waste Drawer**. Retirer les flacons de déclencheur de leur support et cliquer sur le bouton **Next**. Dévisser les anciens flacons de déclencheur de leur capuchon et les remplacer par 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. Cliquer sur **Next**. Une fois le flacon vide remplacé, cliquer sur **Finish**.

Méthode

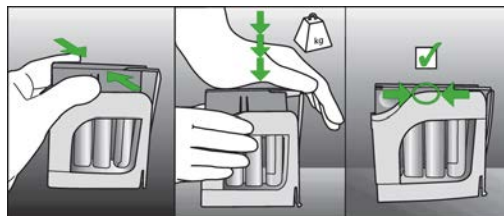
Préparation de la cartouche de réactifs

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

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.**



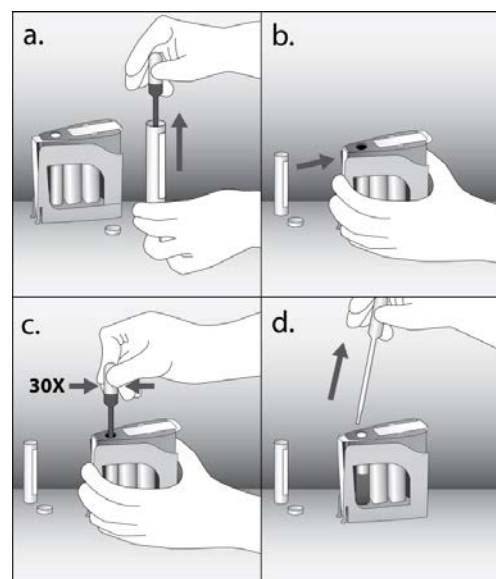
3. Remettre les microparticules de HMGCR en suspension :

- 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 encore 30 fois. 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 dosage

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® HMGCR Calibrators 701331** 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 HMGCR 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 l'analyse.

Contrôle de qualité

Les QUANTA Flash HMGCR Controls (vendus séparément sous la référence Inova 701332) contiennent à la fois des contrôles HMGCR positifs et négatifs. Se reporter à la section intitulée **QUANTA Flash® HMGCR Controls 701332** 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 créée par Inova pour chaque lot de QUANTA Flash HMGCR. 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 et sert à convertir les valeurs RLU en valeurs CU. La réactivité des anticorps anti-HMGCR 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 dosage s'étend de 1,5 CU à 550,0 CU. Si le résultat d'un patient est inférieur à 1,5 CU, le système BIO-FLASH indique « < 1,5 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 550,0 CU, le système BIO-FLASH indique « > 550,0 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 l'analyse d'un échantillon dont le résultat est supérieur à 550,0 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 550,0 CU, la valeur la plus élevée pouvant être reportée est donc 11 000 CU.

Interprétation des résultats

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

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

Limites du test

1. Tous les patients souffrant de myopathie auto-immune ne sont pas positifs aux anticorps anti-HMGCR.
2. Les résultats de ce dosage doivent être utilisés conjointement aux résultats cliniques et à d'autres examens sérologiques.
3. Si les billes enduites de HMGCR 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 dosage n'ont pas été établies pour des matrices autres que le sérum.

Seuil (plage de référence)

Le seuil du dosage a été déterminé à partir de 145 échantillons issus d'un groupe de patients de référence et comprenant 23 donneurs de sang en bonne santé apparente, 22 patients atteints de maladies infectieuses, 18 patients atteints de sclérose systémique, 20 patients présentant un lupus érythémateux disséminé, 48 patients souffrant d'une maladie rénale en phase terminale, et de 14 autres échantillons. Le seuil a été déterminé au 99^e centile des résultats obtenus sur les sujets de référence. Il a été défini sur une valeur de 20 CU.

Valeurs attendues

Pour une population normale, le résultat prévu est « négatif ». Les taux d'anticorps anti-HMGCR ont été analysés à l'aide du QUANTA Flash HMGCR 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 dosage QUANTA Flash HMGCR. La concentration moyenne était inférieure à 1,8 CU et les valeurs s'étendaient de < 1,5 à 8,0 CU.

Traçabilité

Il n'existe aucun sérum de référence international permettant de standardiser les dosages des anticorps anti-HMGCR.

Sensibilité et spécificité cliniques

L'étude de validation clinique a porté sur un total de 723 échantillons dont 257 échantillons prélevés sur des patients atteints de MAI et 466 échantillons de contrôle prélevés sur des patients atteints d'autres syndromes auto-immuns et de diverses maladies infectieuses.

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

Groupe de patients	N	N positif	% positif
Virus de l'hépatite B (VHB)	14	0	0,0 %
Virus de l'hépatite C (VHC)	13	0	0,0 %
Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)	13	0	0,0 %
Syphilis	12	0	0,0 %
Lupus érythémateux disséminé (LED)	80	0	0,0 %
Syndrome de Sjögren (SS)	44	0	0,0 %
Sclérodermie	59	1	1,7 %
Connectivite mixte	36	0	0,0 %
Maladie coéliquaue	25	0	0,0 %
Polyarthrite rhumatoïde	39	0	0,0 %
Fibromyalgie	13	0	0,0 %
Hypothyroïdie	14	0	0,0 %
Maladie de Lyme	15	0	0,0 %
Pseudoarthrite rhizomélique	13	0	0,0 %
Phénomène de Raynaud primitif	15	0	0,0 %
Sarcoïdose	15	0	0,0 %
Cancer du sein	10	0	0,0 %
Cancer colorectal	10	0	0,0 %
Cancer des poumons	10	0	0,0 %
Cancer de l'ovaire	10	0	0,0 %
Syndrome paranéoplasique	6	0	0,0 %
Total des contrôles	466	1	0,2 %
Dermatomyosite (DM)	67	0	0,0 %
Dermatomyosite amyopathique	8	0	0,0 %
Dermatomyosite juvénile	13	1	7,7 %
Polymyosite (PM)	88	9	10,2 %
Myosite à inclusions	13	0	0,0 %
Chevauchement	1	0	0,0 %
Myopathie nécrosante à médiation auto-immune (IMNM)	67	55	82,1 %
Total des myopathies auto-immunes (MAI)	257	65	25,3 %
Total	723	-	-

Les performances cliniques (sensibilité et spécificité) du dosage QUANTA Flash HMGCR ont été analysées dans le tableau ci-dessous :

Analyse clinique (N=723)		QUANTA Flash HMGCR			Analyse (confiance à 95 %)
		Positif	Négatif	Total	
Diagnostic	MAI	65	192	257	Sensibilité : 25,3 % (20,4 à 30,9 %)
	Contrôles	1	465	466	Spécificité : 99,8 % (98,8 à 100,0 %)
	Total	66	657	723	

Fidélité et reproductibilité

La fidélité du dosage QUANTA Flash HMGCR a été évaluée sur 7 échantillons contenant diverses concentrations d'anticorps anti-HMGCR, conformément au document EP5-A3 du CLSI (Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Procedures - Approved Guideline). Les échantillons ont été analysés en double, deux fois par jour, pendant 20 jours. Les différentes formes de fidélité (intra-analyse [répétabilité], inter-analyses, d'un jour à l'autre et fidélité intra-laboratoire [totale]) ont été calculées et récapitulées dans le tableau ci-dessous.

QUANTA Flash HMGCR			Répétabilité		Inter-analyses		D'un jour à l'autre		Intra-laboratoire	
ID échantillon	N	Moyenne (CU)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)
1	80	10,9	0,5	4,6	0,2	2,2	0,5	4,3	0,7	6,7
2	80	48,3	1,1	2,4	1,5	3,1	2,6	5,3	3,2	6,6
3	80	16,3	0,3	2,0	0,5	3,4	0,8	5,0	1,0	6,3
4	80	23,4	0,4	1,9	0,9	3,8	0,9	4,1	1,4	5,9
5	80	76,2	2,1	2,8	1,7	2,2	4,0	5,2	4,8	6,3
6	80	175,5	3,8	2,1	5,4	3,1	11,4	6,5	13,1	7,5
7	80	400,5	15,5	3,9	20,4	5,1	22,6	5,6	34,1	8,5

La reproductibilité (entre laboratoires) du dosage QUANTA Flash HMGCR a été évaluée sur 8 échantillons de sérum contenant diverses concentrations d'anticorps anti-HMGCR, 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 reproductibilité entre les sites a été calculée ; elle est résumée dans le tableau ci-dessous.

ID échantillon	N	Moyenne (CU)	Intra-analyse		D'un jour à l'autre		Au sein du site		Entre les sites		Intra-laboratoire	
			ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)	ET (CU)	CV (%)
Échantillon 1	75	16,1	0,6	3,4 %	0,7	4,4 %	0,9	5,6 %	0,8	4,9 %	1,2	7,5 %
Échantillon 2	75	134,2	4,1	3,0 %	7,7	5,7 %	8,7	6,5 %	0,4	0,3 %	8,7	6,5 %
Échantillon 3	75	123,9	3,6	2,9 %	6,2	5,0 %	7,2	5,8 %	4,7	3,8 %	8,6	6,9 %
Échantillon 4	75	344,2	22,0	6,4 %	18,3	5,3 %	28,6	8,3 %	14,8	4,3 %	32,2	9,4 %
Échantillon 5	75	22,8	0,8	3,4 %	1,1	4,6 %	1,3	5,7 %	0,0	0,0 %	1,3	5,7 %
Échantillon 6	75	23,9	0,5	2,2 %	1,0	4,2 %	1,1	4,8 %	0,5	1,9 %	1,2	5,1 %
Échantillon 7	75	10,6	0,3	3,0 %	0,7	6,5 %	0,8	7,2 %	0,5	5,1 %	0,9	8,8 %
Échantillon 8	75	55,6	1,8	3,2 %	3,0	5,5 %	3,5	6,3 %	0,0	0,0 %	3,5	6,3 %

Plage de mesure analytique

La plage de mesure analytique du dosage s'étend de 1,5 CU à 550,0 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). Quatre échantillons de sérum avec différentes concentrations d'anticorps anti-HMGCR ont été dilués en série pour obtenir des valeurs qui couvrent la plage de mesure analytique. Ces 4 échantillons ont présenté une dilution linéaire individuelle et les données combinées ont produit les résultats suivants avec la régression linéaire :

Échantillons de sérum	Plage de test (CU)	Pente (IC à 95 %)	Ordonnée à l'origine (IC à 95 %)	R ²	% de récupération moyenne
1	610,2 à 61,0	0,97 (0,92 à 1,01)	3,9 (-3,5 à 11,3)	1,00	98,5 %
2	138,0 à 13,8	0,98 (0,95 à 1,01)	-0,1 (-1,3 à 1,05)	1,00	97,7 %
3	21,5 à 2,2	0,94 (0,91 à 0,98)	0,0 (-0,2 à 0,2)	1,00	94,0 %
4	10,4 à 1,0	1,03 (0,99 à 1,06)	0,0 (-0,1 à 0,1)	1,00	103,2 %
Combiné	610,2 à 1,0	0,98 (0,96 à 0,99)	0,1 (0,0 à 0,2)	1,00	98,4 %

La limite de détection (LoD) du dosage QUANTA Flash HMGCR s'élève à 0,2 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 échantillons témoins et 60 mesures sur des échantillons à faible concentration par lot. La limite du blanc (LoB) est de 0,0 CU.

La limite de quantification (LoQ) du dosage QUANTA Flash HMGCR s'élève à 1,4 CU, et a été déterminée en accord avec la recommandation EP17-A2 du CLSI, d'après l'imprécision totale de quatre échantillons présentant un faible taux testés pendant 3 jours par répétition de 5 sur deux lots de réactifs différents, pour un total de 30 déterminations par échantillon. Le % de CV d'imprécision totale doit être < 20 %. La limite de quantification est inférieure à la limite basse de la plage de mesure analytique.

QUANTA Flash® HMGCR Calibrators

Pour usage diagnostique *in vitro*

REF **701331**

Utilisation prévue

Les QUANTA Flash HMGCR Calibrators sont conçus pour une utilisation avec les QUANTA Flash HMGCR Reagents pour le dosage des auto-anticorps IgG anti-HMGCR dans le sérum humain. Chaque étalon fournit un point de référence pour la courbe d'étalonnage qui sert à calculer les valeurs d'unité.

Résumé et principes du test

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

Réactifs

1. QUANTA Flash HMGCR 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-HMGCR dans des agents stabilisants et des conservateurs.
2. QUANTA Flash HMGCR 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-HMGCR dans des agents stabilisants 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 HMGCR Calibrators doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.⁴
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 HMGCR Calibrators sont destinés à être utilisés avec le dosage QUANTA Flash HMGCR.

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 dosage 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 substance chimique des réactifs peut être due à un nettoyage ou un rinçage incorrect de l'appareil. Les résidus de substances chimiques courants en laboratoire, tels que le formaldéhyde, l'eau de Javel, l'éthanol ou les détergents, peuvent provoquer des interférences avec le dosage. Veiller à suivre la procédure de nettoyage de l'appareil recommandée dans le manuel de l'utilisateur du BIO-FLASH.

Conditions de conservation

1. Conserver les étalons non ouverts entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption lorsqu'ils sont conservés et manipulés conformément aux instructions.
2. Les étalons ouverts doivent être éliminés après 8 heures sans bouchon à bord de l'appareil.

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 par 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 d'analyser les QUANTA HMGCRC Controls (vendus séparément sous la référence 701332) après avoir étalonné un lot de cartouches de réactifs.

Traçabilité

Il n'existe aucun sérum de référence international permettant de standardiser les dosages des anticorps anti-HMGCRC.

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 dosage et donc fournir des résultats erronés.

QUANTA Flash® HMGCR Controls

Pour usage diagnostique *in vitro*

REF	701332
-----	---------------

Utilisation prévue

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

Résumé et principes du test

Les QUANTA Flash HMGCR Controls se composent d'un contrôle négatif et d'un contrôle positif. Chacun contient une quantité différente d'anticorps anti-HMGCR. Les contrôles négatif et positif sont utilisés pour surveiller les performances analytiques de l'immunodosage par chimiluminescence QUANTA Flash HMGCR.

Réactifs

1. QUANTA Flash HMGCR Negative Control : deux (2) tubes à code-barres contenant 0,5 ml de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps humains anti-HMGCR dans des agents stabilisants et des conservateurs.
2. QUANTA Flash HMGCR Positive Control : deux (2) tubes à code-barres contenant 0,5 ml de réactif prêt à l'emploi. Contrôles contenant des anticorps humains anti-HMGCR dans des agents stabilisants 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 HMGCR Controls doivent donc être manipulés de la même manière que les substances potentiellement infectieuses.⁴
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 HMGCR Controls sont destinés à être utilisés avec le dosage QUANTA Flash HMGCR.
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 substance chimique des réactifs peut être due à un nettoyage ou un rinçage incorrect de l'appareil. Les résidus de substances chimiques courants en laboratoire, tels que le formaldéhyde, l'eau de Javel, l'éthanol ou les détergents, peuvent provoquer des interférences avec le dosage. Veiller à suivre la procédure de nettoyage de l'appareil recommandée dans le manuel de l'utilisateur du BIO-FLASH.

Conditions de conservation

1. Conserver les contrôles non ouverts entre 2 et 8 °C. Ne pas congeler. Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption lorsqu'ils sont conservés et manipulés conformément aux instructions.
2. Les contrôles 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 échantillonnage, et les conserver entre 2 et 8 °C, rebouchés, dans leur flacon d'origine.

Procédure

Créer de nouveaux matériels CQ pour le dosage HMGCR :

1. Avant d'utiliser des QUANTA Flash HMGCR 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 **QC Ctrl-F2**. Cliquer sur le bouton **New QC Material**.
3. Une fiche de données spécifique au lot est jointe à chaque trousse 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 dosage HMGCR 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 HMGCR Controls pour la première fois, le lot, la date de péremption, la valeur (ou dose) et les informations sur l'écart type cible doivent être entrés dans le logiciel.
2. À l'écran **Instrument Summary**, cliquer sur le bouton fléché **Choose more options – Ctrl-M (▼)**. Sélectionner **QC Ctrl-F2**. Mettre le dosage HMGCR en surbrillance dans la colonne de gauche. Mettre ensuite le matériau de contrôle approprié en surbrillance à droite (« HMGCRN » pour le contrôle négatif ou « HMGCRP » pour le contrôle positif). Cliquer sur le bouton **New QC Lot**.
3. Une fiche de données spécifique au lot est jointe à chaque trousse 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 dosage HMGCR 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 HMGCR Controls une fois par jour où le dosage est utilisé. L'utilisateur doit toutefois tenir compte des exigences réglementaires en vigueur.

Chaque contrôle doit être mélangé délicatement avant utilisation pour garantir son homogénéité. Éviter la formation de mousse, car les bulles peuvent interférer avec la détection du niveau de liquide des appareils. Retirer le capuchon de chaque tube de contrôle et les placer tous les deux dans un portoir d'échantillons, les codes-barres 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 par chimiluminescence BIO-FLASH et le logiciel BIO-FLASH.

Traçabilité

Il n'existe aucun sérum de référence international permettant de standardiser les dosages des anticorps anti-HMGCR.

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. Bottai M, Tjarnlund A, Santoni G, Werth VP, Pilkington C, de VM *et al.*: **EULAR/ACR classification criteria for adult and juvenile idiopathic inflammatory myopathies and their major subgroups: a methodology report.** *RMD Open* 2017, **3**: e000507.
2. Christopher-Stine L, Casciola-Rosen LA, Hong G, Chung T, Corse AM, Mammen AL: **A novel autoantibody recognizing 200-kd and 100-kd proteins is associated with an immune-mediated necrotizing myopathy.** *Arthritis Rheum* 2010, **62**: 2757-2766.
3. Musset L, Allenbach Y, Benveniste O, Boyer O, Bossuyt X, Bentow C *et al.*: **Anti-HMGCR antibodies as a biomarker for immune-mediated necrotizing myopathies: A history of statins and experience from a large international multi-center study.** *Autoimmun Rev* 2016
4. **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*



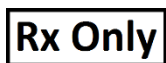
Fabricant



Conformité aux normes européennes



Représentant autorisé



Uniquement sur ordonnance selon la FDA américaine



Contenu suffisant pour < n > tests



Consulter les instructions d'utilisation



Contrôle positif



Limite de température



Contrôle négatif



Ne pas réutiliser



Étalon 1



Risques biologiques



Étalon 2



Code du lot



Carton en papier recyclable



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

Sponsor australien :

Werfen Australia Pty Ltd
59-61 Dickson Avenue
Artarmon NSW 2064 Australie
Tél. +61 2 9098 0200 / 1300 369 132
<http://au.werfen.com/>

Représentant autorisé en Europe :

Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
66386 St. Ingbert, Allemagne
Tél. : +49-6894-581020
Fax : +49-6894-581021
www.mt-procons.com

621330FR

Septembre 2018
Révision 4

