

QUANTA Lite® CCP3 IgG ELISA

Uniquement pour "Diagnostics In-Vitro"

Complexité de CLIA: Haut



REF

704535

Rx Only

Application

Le test QUANTA Lite CCP3 IgG ELISA est un dosage semi-quantitatif par la méthode ELISA destiné à la détection des anticorps IgG anti-CCP3 (3 peptide cyclique citrulliné) dans les patients sérums, les citratés ou les plasmas EDTA. La recherche d'anticorps anti-CCP3 IgG, peut être utilisée conjointement aux signes cliniques et à d'autres tests de laboratoire pour faciliter le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde.

Informations concernant le test

L'arthrite rhumatoïde (RA) est l'une des maladies auto-immunes systémiques les plus courantes, elle touche environ 0,5 % de la population mondiale.¹ Le diagnostic dépend principalement des manifestations cliniques de la maladie. Jusqu'à une date récente, le seul test sérologique utilisé en routine était la détermination de la présence du facteur rhumatoïde (RF), qui est observé chez environ 50 à 90 % de ces patients.^{1,2} Cependant, le RF est également observé chez des personnes atteintes par des infections, par d'autres maladies auto-immunes et chez certains individus sains.^{1,2}

Dans le cadre de la prise en charge de cette maladie, il est important de diagnostiquer et de traiter les personnes atteintes de RA dès que possible.³ On sait depuis de nombreuses années que les auto-anticorps anti-périmucléaires, également appelés auto-anticorps anti-kératine, sont observés chez les personnes atteintes de RA.⁴ Récemment, il a été découvert que ces anticorps reconnaissaient un épitope qui contient la forme désimidée de l'arginine appelée citrulline.^{5,6} Un peptide circulaire contenant la citrulline, appelé CCP (peptide cyclique citrulliné), a montré qu'il permettait de mieux différencier les patients atteints des autres patients que les dosages des anticorps périmucléaires ou les dosages du facteur rhumatoïde.^{4,7-9} Lors d'une étude de la littérature publiée⁶, 77 % des patients atteints de RA étaient positifs vis-à-vis des anti-CCP, contre une moyenne de 3 % des sujets non atteints de RA.

Un test ELISA réalisé avec la séquence CCP⁶ décrite à l'origine n'a pas été largement commercialisé. Cependant, la seconde génération de tests anti-CCP (appelés CCP2 par certaines sociétés) est largement disponible et possède des performances supérieures à celles du peptide d'origine.¹⁰ Chez Inova le nom du test de seconde génération est : CCP IgG ELISA. Les anticorps provenant de certains patients atteints de RA, qui sont négatifs vis-à-vis des anti-CCP2, sont réactifs avec d'autres protéines citrullinées,^{4,7,8} ce qui laisse penser qu'il existe des épitopes supplémentaires qui ne sont pas présents dans la séquence antigénique CCP de la seconde génération. Le peptide de troisième génération utilisé dans ce test ELISA, le CCP3, a été développé en testant un grand nombre de patients atteints de RA et de patients de contrôle avec divers peptides citrullinés. Un test ELISA réalisé avec le CCP3 présente une sensibilité supérieure d'environ 5 % pour la détection des patients atteints de RA par rapport au CCP2 de seconde génération, tout en conservant une spécificité très élevée. Parmi d'autres améliorations apportées au test ELISA CCP3 on trouve des puits détachables codés par couleurs et la possibilité d'utiliser des échantillons de patients sérums ou plasmatiques.

Principe du test

L'antigène utilisé dans le coffret ELISA QUANTA Lite CCP3 IgG est un peptide cyclique synthétique ayant de grande sensibilité et spécificité dans la détection d'anticorps chez les patients de PR. Cet antigène est fixé à la surface des puits des plaques de micro-titration. Des contrôles prédilués et des échantillons de patients dilués sont ajoutés dans des puits distincts afin de permettre à tous les anticorps IgG CCP présents de se lier à l'antigène immobilisé. Les molécules non liées aux antigènes sont éliminées par lavage. Un conjugué enzymatique anti-IgG humaine est alors ajouté dans chaque puits pour révéler les auto-anticorps du patient. Après une étape d'incubation, le conjugué non fixé est éliminé par lavage. L'activité enzymatique résiduelle est quantifiée grâce à l'addition d'un substrat chromogène suivie d'une étape de mesure de l'intensité de la coloration ainsi développée. Les résultats peuvent être évalués par comparaison entre la couleur du puits d'échantillon et celle des puits de contrôle.

Contenu du coffret

1. Polystyrene microwell ELISA Plate revêtue d'antigène CCP3 portoir de 12 barrettes de 8 puits en polystyrène sécables, dans un sachet d'aluminium avec un dessicant
2. ELISA Negative Control, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain sans anticorps IgG humains anti-CCP, dans du tampon avec du stabilisateur
3. CCP3 IgG ELISA Low Positive, 1 flacon de 1,2 ml, sérum IgG humain avec des anticorps humains anti-CCP dilué dans du tampon avec du stabilisateur
4. CCP3 IgG ELISA High/Calib. A, 1 flacon de 1,2 ml de sérum IgG humain avec des anticorps humains anti-CCP, dans du tampon avec du stabilisateur
5. CCP3 IgG ELISA Calibrator B, 1 flacon de 1,2 ml de sérum IgG humain avec des anticorps humains anti-CCP, dans du tampon avec du stabilisateur
6. CCP3 IgG ELISA Calibrator C, 1 flacon de 1,2 ml de sérum IgG humain avec des anticorps humains anti-CCP, dans du tampon avec du stabilisateur
7. CCP3 IgG ELISA Calibrator D, 1 flacon de 1,2 ml de sérum IgG humain avec des anticorps humains anti-CCP, dans du tampon avec du stabilisateur
8. CCP3 IgG ELISA Calibrator E, 1 flacon de 1,2 ml de sérum IgG humain avec des anticorps humains anti-CCP, dans du tampon avec du stabilisateur
9. HRP Sample Diluent, teinté en rose, 1 flacon de 50 ml contenant du tampon Tris salin, du Tween 20, des stabilisateurs de protéines et des conservateurs
10. HRP Wash Concentrate (40x) – tampon Tris salin avec du Tween 20, teinté de rouge, 1 flacon de 25 ml. Consulter le paragraphe "Méthode" pour la dilution.

11. HRP CCP3 IgG Conjugate, (goat), anticorps de chèvre anti-IgG humaines dans du tampon avec des stabilisateurs de protéines et des conservateurs, teinté en bleu, 1 flacon de 10 ml
12. TMB Chromogen, avec stabilisateurs, 1 flacon de 10 ml
13. HRP Stop Solution, acide sulfurique 0,344M, non teinté, 1 flacon de 10 ml

Avertissements

1. ATTENTION: Le diluant des échantillons, les contrôles et le conjugué contiennent 0,02% de chloramphénicol, considéré comme cancérogène dans l'état de Californie.
2. Tout le matériel d'origine humain utilisé pour la préparation des contrôles a été testé et trouvé négatif lors de la recherche d'anticorps anti-VIH, anti-antigène de surface de l'Hépatite B et anti-Virus de l'Hépatite C à l'aide de tests approuvés par la FDA. Cependant, aucune méthode ne peut donner une garantie complète quant à l'absence de VIH, de VHB, du VHC ou d'autres agents infectieux. En conséquence, tous les sérums humains de contrôle doivent être manipulés avec les mêmes précautions que celles utilisées pour un matériel potentiellement infectieux.¹¹
3. L'azide de sodium (NaN_3) est utilisé comme conservateur. NaN_3 est un poison et il est toxique en cas d'ingestion et de contact avec les yeux et la peau. Eviter de l'exposer aux bases, métaux ou autres composants, réagissant avec les acides. Après l'évacuation des réactifs, laver à grande eau afin d'éviter des dépôts dans les canalisations.
4. Le conjugué Peroxydase HRP contient un composant chimique dilué qui est un poison corrosif, toxique en cas d'ingestion en grande quantité. Pour éviter des brûlures chimiques, il est recommandé d'éviter tout contact avec la peau ou les yeux.
5. Le chromogène TMB est irritant et peut être toxique en cas d'inhalation, d'ingestion et d'absorption en grande quantité. Eviter tout contact avec la peau ou les yeux et toute inhalation.
6. La solution d'arrêt HRP est une solution diluée d'acide sulfurique. Eviter de l'exposer aux bases, aux métaux, aux oxydants ou tout autre composé susceptible de réagir avec les acides. L'acide sulfurique est toxique et corrosif en cas d'absorption. Eviter le contact avec la peau et les yeux pour éviter toute brûlure chimique.
7. Lors de la manipulation de ces produits, utiliser les équipements de protection personnelle appropriés.
8. Les éclaboussures de réactifs doivent être nettoyées immédiatement. Respecter les règlements en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce test est pour un usage diagnostic in vitro.
2. Toute substitution par d'autres réactifs que ceux fournis dans le coffret entraîne des variations de résultats.
3. Un lavage incomplet ou insuffisant et une aspiration insuffisante du liquide dans les puits d'ELISA entraînent des imprécisions et un bruit de fond élevé.
4. L'automatisation, complète ou partielle, du traitement des échantillons dans ce test peut produire des différences de résultats par rapport au traitement manuel. Chaque laboratoire est responsable de la validation des procédures automatiques afin que les résultats des tests restent dans les limites acceptables.
5. Un certain nombre de facteurs influencent la performance du test: la température initiale des réactifs, la température ambiante, l'exactitude et la reproductibilité de la technique de pipetage, la qualité du lavage et de vidange des puits d'ELISA, le photomètre utilisé pour mesurer les résultats et la durée des temps d'incubation pendant le test. Il est donc recommandé de prêter attention à tous ces facteurs pour obtenir des résultats reproductibles et rigoureux.
6. Il est recommandé de suivre strictement le protocole. Chaque modification est au risque de l'utilisateur.
7. La fermeture incomplète de la pochette contenant les puits de microtitration et le dessiccatant entraîne la dégradation de l'antigène et en conséquence une mauvaise précision des résultats.
8. Des valeurs faibles et inacceptables d'absorption peuvent être progressivement observées dès le **deuxième** prélèvement dans le même flacon de conjugué HRP. Il est donc important de suivre exactement les instructions fournies pour éviter ce risque.
9. Un nettoyage ou rinçage inappropriate des appareils et instruments pourrait provoquer une contamination chimique du conjugué HRP. Des résidus de produits chimiques courants de laboratoire comme le formol, l'eau de javel, l'éthanol ou les détergents, entraînent la dégradation progressive du conjugué HRP. Il est absolument recommandé de rincer abondamment tous les instruments et appareils après l'utilisation des détergents chimiques.

Conditions de conservation

1. Conserver tous les réactifs du coffret entre 2-8°C. Ne pas congeler. Les réactifs sont stables jusqu'à la date limite d'utilisation dans des conditions de stockage et d'utilisation conformes.
2. Les puits non utilisés devront être remis dans l'emballage en aluminium avec le dessiccatant, bien refermé et stocké à 2-8°C.
3. La solution de tampon diluée reste stable une semaine à 2-8°C.

Echantillons

La procédure peut être mise en œuvre avec des échantillons de sérums, de plasmas citratés ou de plasmas EDTA, car ces échantillons donnent des résultats identiques. Ne pas utiliser des échantillons de plasma sur lithium et héparine car ils peuvent donner des résultats différents de ceux des sérums. L'addition d'azides ou d'autres conservateurs aux échantillons de test peut en affecter défavorablement les résultats. Les sérums contaminés par des agents microbiens, prétraités par la chaleur ou contenant des particules visibles ne doivent pas être utilisés. Les sérums ou échantillons hémolysés ou lipémiques sont à éviter.

Après prélèvement, le sérum doit être séparé du culot. Le document H18-A3 du CLSI (autrefois NCCLS) recommande les conditions suivantes de conservation: 1) Conserver les échantillons à température ambiante pas plus de 8 heures. 2) Si le test ne peut pas être fait dans les 8 heures, conserver les échantillons à 2-8°C. 3) Si le test ne s'effectue pas dans les 48 heures ou si on doit envoyer les échantillons, les congeler à -20°C ou à plus basse température. Bien agiter les échantillons décongelés.

Procédure

Matériel fourni

- 1 CCP3 IgG ELISA microwell plate (12-1 x 8 puits), avec support
- 1 1,2 ml ELISA Negative Control pré-dilué
- 1 1,2 ml CCP3 IgG ELISA Low Positive pré-dilué
- 1 1,2 ml CCP3 IgG ELISA High Positive/Calibrator A pré-dilué
- 1 1,2 ml CCP3 IgG ELISA Calibrator B pré-dilué
- 1 1,2 ml CCP3 IgG ELISA Calibrator C pré-dilué
- 1 1,2 ml CCP3 IgG ELISA Calibrator D pré-dilué
- 1 1,2 ml CCP3 IgG ELISA Calibrator E pré-dilué
- 1 50 ml HRP Sample Diluent
- 1 25 ml HRP Wash Concentrate (40x)
- 1 10 ml HRP CCP3 IgG Conjugate, (goat), anti-human IgG
- 1 10 ml TMB Chromogen
- 1 10 ml HRP Stop Solution (acide sulfurique 0,344M)

Autre matériel nécessaire non fourni

Pipettes 5, 100, 200-300 et 500 µl

Cônes jetables

Tubes de 4ml pour la dilution de sérum

Eau distillée ou déionisée

Récipient de 1 litre pour le tampon de lavage HRP dilué

Lecteur ELISA avec filtre de 450nm (et 620nm pour les lectures à double longueur d'ondes)

Méthode

Préparation du test

1. Porter tous les réactifs et échantillons à la température ambiante (20-26°C) et bien les mélanger avant de les utiliser.
2. Diluer la totalité de la solution de lavage (25ml) avec 975 ml d'eau distillée (1/40). La solution de tampon diluée reste stable une semaine à 2-8°C. Si la totalité de la plaque de microtitration n'est pas utilisée en une seule fois, un plus petit volume de tampon sera suffisant, par exemple pour traiter 16 puits, diluer 2ml de tampon concentré dans 78ml d'eau distillée.
3. Préparer les sérum des patients en les diluant au 1/101 dans le diluant d'échantillon (5µl dans 500µl). Les sérum doivent être utilisés dans les 8 heures qui suivent leur dilution. **Ne pas diluer** les contrôles ELISA fortement positif, faiblement positif en CCP3 IgG ni le contrôle négatif.
4. La détermination de la présence ou de l'absence de la CCP3 IgG en unités arbitraires nécessitent deux puits pour chacun des trois contrôles et un ou deux puits pour chacun des sérum des patients. Il est recommandé de tester les échantillons en double.
5. Les résultats quantitatifs peuvent être obtenus par l'utilisation d'une courbe d'étalonnage à 5 points. Utiliser les Calibrants ELISA (A - E) anti-CCP3 IgG **pré-dilué**, directement des flacons. Les 5 points de la courbe de calibration ont les valeurs suivantes:

Point	Unité
A	CCP3 IgG Calibrator A pré-dilué
B	CCP3 IgG Calibrator B pré-dilué
C	CCP3 IgG Calibrator C pré-dilué
D	CCP3 IgG Calibrator D pré-dilué
E	CCP3 IgG Calibrator E pré-dilué

Exécution du test

1. **PORTEZ TOUS LES RÉACTIFS ET LES ÉCHANTILLONS À TEMPERATURE AMBIANTE (20-26°C) AVANT DE LES UTILISER.** Placer le nombre nécessaire de micro puits ou de barrettes sur le portoir. **Remettre immédiatement les barrettes non utilisées dans la pochette en aluminium avec le dessiccants, fermer hermétiquement pour éviter toute condensation de vapeur d'eau.**
2. Distribuer 100 µl de chacun des contrôles ELISA fortement, faiblement positifs en CCP3 IgG, des calibrateurs de B à E si souhaité et négatif **pré-dilués** et de sérum des dilués patients dans les puits. Recouvrir les barrettes et laisser incuber pendant 30 minutes à température ambiante. Le temps d'incubation commence après l'ajout du dernier échantillon.
3. Lavage: aspirer le contenu de tous les puits. Ajouter 200-300µl de tampon **dilué** dans tous les puits et l'aspirer ensuite complètement. Répéter cette opération deux fois supplémentaires pour un total de trois lavages. Après le dernier lavage, retourner la plaque en la tapotant sur du papier absorbant, pour enlever tout liquide de lavage résiduel. Pour l'aspiration, maintenir la même séquence que celle utilisée lors de la distribution des échantillons.
4. Distribuer 100 µl de conjugué HRP CCP3 IgG dans chaque puits. Le conjugué doit être prélevé du flacon dans des conditions aseptiques. Prélever en une seule fois la quantité de conjugué nécessaire à la réalisation de la série. **POUR ÉVITER LE RISQUE DE CONTAMINATION, NE JAMAIS REMETTRE LE RESTE DU CONJUGUE NON UTILISE DANS LE FLACON.** Recouvrir les barrettes et incuber pendant 30 minutes à température ambiante, comme décrit à l'étape 2.
5. Lavage: Répéter la procédure décrite à l'étape 3.
6. Distribuer 100 µl de chromogène TMB dans chaque puits et laisser incuber à l'**obscurité** 30 minutes à température ambiante.
7. Ajouter 100 µl de solution d'arrêt HRP dans chaque puits. Maintenir la même séquence et le même timing lors de l'addition de la solution d'arrêt que ceux utilisés lors de la distribution du chromogène TMB. Tapoter délicatement les plaques pour bien mélanger le contenu des puits.
8. Lire la densité optique (D.O.) de chaque puits à 450nm dans l'heure qui suit l'arrêt de la réaction. Pour une lecture bichromatique, la longueur d'onde de référence peut être 620nm.

Contrôle de qualité

1. Les contrôles ELISA fortement positif CCP3 IgG, faiblement positif en CCP3 IgG et négatif doivent être inclus à chaque série de tests afin de s'assurer du bon fonctionnement des réactifs et du bon déroulement de la procédure.
2. Etant donné que les contrôles ELISA fortement positifs CCP3 IgG, ELISA faiblement positifs en CCP3 IgG et négatifs sont prédilués, il n'est pas possible de valider le procédé de dilution des échantillons.
3. Des contrôles de qualité supplémentaires peuvent être réalisés selon les directives nationales, les réglementations internationales ou celles des organismes d'accréditation. Des contrôles appropriés peuvent être obtenus en aliquotant un pool de sérum humain conservé à une température inférieure ou égale à -20°C.
4. Pour valider les résultats obtenus, tous les critères décrits ci-dessous devront être vérifiés. Si un ou plusieurs de ces critères ne sont pas réalisés, le test devra être considéré comme non valide et à refaire.
 - a. La densité optique du Contrôle ELISA fortement positif en CCP3 IgG pré-dilué doit être supérieure à celle du contrôle ELISA faiblement positif en CCP3 IgG pré-dilué. D'autre part, la densité optique du contrôle ELISA faiblement positif en CCP3 IgG doit être supérieure à celle du contrôle ELISA négatif pré-dilué.
 - b. La densité optique du contrôle ELISA fortement positif en CCP3 IgG pré-dilué doit être supérieure à 1,0. Celle du contrôle négatif pré-dilué doit être inférieure à 0,2.
 - c. L'absorbance du Contrôle ELISA faiblement positif en CCP3 IgG doit être deux fois supérieure à celle du contrôle négatif d'ELISA ou supérieure à 0,25.
 - d. Les contrôles ELISA négatif et ELISA fortement positif en CCP3 IgG permettent de contrôler le bon fonctionnement des tests. Le Contrôle ELISA fortement positif en CCP3 IgG n'assure pas la précision de la valeur seuil du test.
 - e. L'utilisateur du test peut se référer au document C24-A3 du CLSI (autrefois NCCLS) pour des informations supplémentaires concernant le contrôle qualité.

Résultats Semi-Quantitatifs – Méthode du ratio

Déterminer d'abord la valeur moyenne des duplicates. La réactivité de chaque échantillon est calculée en divisant la DO moyenne de l'échantillon par la DO moyenne du contrôle faible et multiplier le résultat obtenu par la valeur (en unités) affectée au contrôle faible. La valeur en unités est indiquée sur l'étiquette du flacon de contrôle ELISA positif faible en CCP3 IgG.

$$\text{Valeur de l'échantillon} = \frac{\text{DO de l'échantillon}}{\text{DO du contrôle faible}} \times \text{valeur du contrôle faible}$$

(unités) (unités)

La réaction n'évolue pas de manière linéaire en fonction de la quantité d'anticorps présents dans le sérum. L'augmentation et la diminution de la concentration d'anticorps se traduisent par une augmentation ou une diminution de réactivité correspondante mais ces modifications du signal ne sont pas proportionnelles (par exemple un doublement de la quantité d'anticorps ne fera pas doubler le signal). Pour une évaluation quantitative rigoureuse des anticorps du patient, il faudra réaliser des dilutions séries du sérum. Dans ce cas, la dernière dilution du sérum qui donne encore un signal positif sera considéré comme étant le titre en anticorps du patient.

Option : Résultats Semi-Quantitatifs utilisant une courbe d'étalonnage

Calcul des résultats avec l'option de courbe d'étalonnage

1. Déterminer la valeur moyenne de lecture des duplicates.
2. Tracer la courbe d'étalonnage des moyennes d'absorbance (DO) des échantillons en fonction de leur valeur en Unités. Utiliser un lissage cubique, linéaire/linéaire, (fonction polynomiale de 3^e degré) ou un traçage point-par-point pour réaliser la courbe.
3. Déterminer la concentration en CCP3 en faisant correspondre le nombre d'Unités sur l'axe « Y » à l'absorbance (DO) reportée sur l'axe « X ».
4. Note : Les valeurs calculées avec la méthode de règle de trois seront différentes de celles obtenues avec la courbe d'étalonnage. Il y a plus de différence avec les valeurs hautes que les valeurs basses. Le contrôle Positif Fort en CCP3 n'aura pas la valeur de 250 Unités avec la méthode de règle de trois.

Interprétation des résultats

Le test ELISA est une technique très sensible et peut en conséquence détecter de très faibles différences au sein d'un groupe de patients. Les valeurs limites détaillées dans le paragraphe "calcul des résultats" sont indicatives. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs seuils d'interprétation en fonction de ses techniques, contrôles, équipements et populations de patients. Les échantillons peuvent être interprétés comme négatifs, faiblement, modérément ou fortement positif selon les valeurs en unités détaillées ci-dessous:

	Unités
Négatif	<20
Faiblement positif	20 - 39
Modérément positif	40 - 59
Fortement positif	≥60

1. Un résultat positif indique la présence d'anticorps CCP3 IgG et la possibilité du polyarthrite rhumatoïde (PR).
2. Un résultat négatif indique l'absence d'anticorps CCP3 IgG ou bien un taux d'anticorps en dessous de la valeur seuil.
3. Nous suggérons de rendre les résultats avec la remarque suivante: "Les résultats suivants ont été obtenus avec le test ELISA Inova QUANTA Lite CCP3 IgG. Les valeurs d'anti-CCP3 IgG obtenues avec des tests de différents fabricants ne sont pas interchangeables. Le taux d'anti-IgG trouvé n'est pas corrélé à un titrage en point final."

Limites du test

- La présence de Complexes Immuns ou d'autres agrégats d'Immunoglobulines dans le sérum humain peut entraîner l'augmentation d'une liaison non spécifique et des résultats faussement positifs.
- Les patients PR ne sont pas tous positifs en anticorps anti-CCP.
- Les résultats obtenus à l'aide de ce test devront être corrélés avec des signes cliniques et d'autres tests sérologiques.
- Les performances du coffret pour les échantillons autres que les sérum de plasmas citratés ou de plasmas EDTA n'ont pas été établies.
- La valeur d'anti-CCP3 pour le diagnostic des Jeunes patients de polyarthrite rhumatoïde n'a pas été établie.
- Substances interférentes : Des concentrations élevées d'hémoglobine, de bilirubine, de cholestérol ou de triglycérides ne provoquent pas de faux négatifs ou de faux positifs.

Valeurs de référence des échantillons cliniques

La capacité du test QUANTA Lite CCP3 IgG ELISA à détecter les anticorps IgG CCP3 a été évaluée par comparaison sur 521 échantillons avec un test ELISA qui mesure les IgG anti-CCP2. Parmi ces échantillons, se trouvaient ceux de 156 patients ayant fait l'objet d'un diagnostic clinique de RA. Les sérum de 166 donneurs de sang pris au hasard ont également été testés. Parmi les 146 échantillons pour lesquels l'âge et le sexe étaient disponibles, 59 provenaient de femmes âgées, en moyenne, de 38,3 ans. Les contrôles des affections ont concerné 113 personnes atteintes d'autres affections rhumatismales (ORD) comme le lupus érythémateux systémique (78), le syndrome de Sjögren (11) et la sclérodermie (24), ainsi que 86 échantillons supplémentaires renfermant des anticorps dirigés contre des maladies infectieuses (ID) comme les hépatites C (62), le virus herpes simplex (8), le cytomégalovirus (8), la toxoplasmose (6) et la rubéole (2) dans le cadre d'une vaste étude interne.

Sensibilité et spécificité clinique

Le tableau suivant présente un résumé des résultats de toutes nos études cliniques.

Échantillons N=521 CCP3 ELISA CCP IgG ELISA

	+	-	+	-
RA (N=156)	115	41	107	49
Contrôles totaux (N=365)	16	349	7	358
Donneurs de sang (N=166)	4	162	1	165
Autres affections rhumatismales (N=113)	12	101	6	107
Maladies infectieuses (N=86)	0	86	0	86

Sensibilité Clinique [(95% Intervalle de confiance (CI))] = CCP3 = 74% (67-81%)

CCP = 69% (61-76%)

Spécificité Clinique (95% CI) =

CCP3 = 96% (93-98%)

CCP = 98% (96-99%)

Comparaison des méthodes

Tous les Échantillons N=521

	CCP IgG ELISA	
	+	-
CCP3	+	112 19*
ELISA	-	2** 388

Sensibilité Relatives (95% CI) = 98% (94-100%)

Spécificité Relatives (95% CI) = 95% (93-97%)

Concordance = 96,0%

*10 de ces patients ont été diagnostiqués comme atteints de RA alors que 3 des autres étaient positifs vis-à-vis des IgM et/ou des IgA RF.

**Ces 2 échantillons ont été diagnostiqués comme des patients atteints de RA.

Réactions croisées

Pour évaluer la réactivité croisée potentielle de l'antigène CCP3 avec d'autres auto-anticorps, le dosage QUANTA Lite CCP3 ELISA a été évalué sur 16 échantillons, présentant tous des concentrations élevées de divers autres auto-anticorps. Dans ce groupe il y avait 2 échantillons de tous ceux qui avaient réagi avec SS-A, SS-B, Sm, RNP, Scl-70, Jo-1, Ribo-P et dsDNA. Tous les échantillons ont été négatifs vis-à-vis de l'anti-CCP3. L'étude ci-dessus montre qu'il n'existe aucune réactivité croisée significative entre l'antigène CCP3 et divers autres auto-anticorps.

Précision

Les variations entre dosages ont été mesurées en traitant en singulet des échantillons négatifs, faiblement positifs et fortement positifs au cours de 6 dosages distincts mis en œuvre 4 jours différents. Les variations intra-dosage ont été mesurées en traitant 9 échantillons à 8 ou 9 reprises chacun sur la même plaque ELISA. Les résultats représentatifs sont présentés ci-dessous.

Variation inter-essais

	Négatif 1		Faiblement 1		Faiblement 2		Fortement 1	
	1 pt.*	5 pt.**	1 pt.	5 pt.	1 pt.	5 pt.	1 pt.	5 pt.
Unités de la moyenne	5 U	0 U	28 U	31 U	35 U	42 U	110 U	226 U
Écart type	0,2	0,0	1,6	2,4	1,1	1,8	4,4	9,2
Coéfficient de variation %	4%	0%	6%	8%	3%	4%	4%	4%

Variation intra-essais

	Négatif 1		Faiblement 1		Faiblement 2		Fortement 1	
Unités de la moyenne	1 pt.	5 pt.	1 pt.	5 pt.	1 pt.	5 pt.	1 pt.	5 pt.
Écart type	5 U	0 U	26 U	28 U	32 U	37 U	114 U	226 U
Coéfficient de variation %	0,1	0,0	0,6	0,9	1,6	2,6	1,7	6,4
	3%	0%	3%	3%	5%	7%	1%	3%

*Résultats du test par la méthode des rapports

**Résultats du test par la courbe de concordance

QUANTA Lite, Inova et Inova Diagnostics sont des marques d'Inova Diagnostics, Inc. © 2020 Inova Diagnostics, Inc.
Tous droits réservés.

Symboles utilisés

	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Conformité aux normes européennes
	Représentant européen agréé
	Sur ordonnance uniquement, conformément aux dispositions de la FDA.
	Limite de température
	Code du lot
	Numéro de catalogue ou référence
	Fabricant
	Date de péremption
	Contenu suffisant pour <n> Tests
	Consulter les instructions d'utilisation.
	Indique un changement de révision

Références

1. Wener MH: Rheumatoid Factors. Manual of Clinical Laboratory Immunology, NR Rose et al eds, American Society for Microbiology Press, 961-972 (2002).
2. Borrezen M et al: Rheumatoid Factors. Autoantibodies, Peter JB and Shoenfeld Y, eds, Elsevier Science B.V., 706-715 (1996).
3. Kim JK and Weisman MH: When does rheumatoid arthritis begin and why do we need to know? Arthritis Rheum 43: 473-484 (2000).
4. van Jaarsveld CHM et al: The prognostic value of the antiperinuclear factor, anti-citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in early arthritis. Clin Exp Rheum 17: 1689-1697 (1999).
5. Vossenaar ER and Van Venrooij WJ: Anti-CCP antibodies, a highly specific marker for (early) rheumatoid arthritis. Clin Applied Immunol Rev 4: 239-262 (2004).
6. Schellekens GA et al: Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. J Clin Invest. 101: 273-281 (1998).
7. Vittecoq O et al: Autoantibodies recognizing citrullinated rat filaggrin in an ELISA using citrullinated and non-citrullinated recombinant proteins as antigens are highly diagnostic for rheumatoid arthritis. Clin Exp Immunol 135: 173-180 (2004).
8. Saraux A et al: Value of antibodies to citrulline-containing peptides for diagnosing early rheumatoid arthritis. J Rheumatol 30: 2535-2539 (2003).
9. Vencovsky J et al. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 62: 427-430 (2003).
10. van Gaalen FA et al: A comparison of the diagnostic accuracy and prognostic value of the first- and second anti-cyclic citrullinated peptide autoantibody (CCP1 and CCP2) tests for rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis epub ahead of print (2005).
11. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control and Prevention/National Institute of Health, 5th Edition, 2009.

Fabricant:

Inova Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
United States of America
Technical Service (U.S. & Canada Only) : 877-829-4745
Technical Service (Outside the U.S.) : 00+ 1 858-805-7950
support@inovadx.com

Australian Sponsor:

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

Représentant Autorisé:

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

624535FR

Février 2020
Revision 9

