

QUANTA Lite® M2 EP (MIT3) ELISA

Uniquement pour “Diagnostics *In-Vitro*”
Complexité de CLIA: Haut

REF 704540

Rx Only

Application

QUANTA Lite M2 EP (MIT3) ELISA est un test Dosage immuno-enzymatique (ELISA) pour la détection semi-quantitative des anticorps mitochondriaux dans le sérum humain. La recherche d'anticorps anti-mitochondries peut être utilisée conjointement aux signes cliniques et à d'autres tests de laboratoire pour faciliter le diagnostic de cirrhose biliaire primaire.

Informations concernant le test

La cirrhose primitive du foie (PBC) est une affection hépatique chronique caractérisée par la destruction des petits canaux biliaires intrahépatiques. La destruction progressive des canaux conduit à une altération fonctionnelle croissante du foie et, au cours du temps, à une insuffisance hépatique qui nécessite une transplantation hépatique.¹
² L'étiologie de la PBC est inconnue, bien qu'une composante génétique ainsi que d'autres facteurs puissent jouer un rôle important dans le développement de cette maladie.^{1, 3, 4}

Classiquement, la PBC se produit entre les âges de 30 et 65 ans et touche les femmes plus fréquemment que les hommes (rapport femmes – hommes estimé à 9 : 1).^{3, 4} La prévalence de la PBC chez les parents au premier degré des patients atteints de PBC est de 1,3 à 6,4 %.^{4, 5} La PBC est observée dans toutes les races et sa distribution est mondiale. Des variations importantes de la prévalence géographique de la PBC ont été signalées, avec des estimations allant de 2 pour 100 000 au Japon et en Australie à 40 pour 100 000 aux Etats-Unis.^{3, 6}

Les dosages sérologiques sont des auxiliaires importants dans l'identification et le diagnostic de la PBC car de nombreux anticorps associés à la PBC sont présents avant que les symptômes deviennent évidents.⁷⁻⁹ Les anticorps anti-mitochondriaux (AMA), détecté par les dosages par immunofluorescence indirecte (IFA), sont les marqueurs sérologiques classiques de la PBC.¹⁰ Bien que les AMA aient été signalés chez 90-95 % des patients atteints de PBC, la fréquence de détection peut être significativement inférieure.¹¹ La détection des AMA par IFA est hautement dépendante des compétences de l'observateur, des éléments techniques du dosage, et de la présence d'autres anticorps qui peuvent obscurcir ou rendre difficile l'interprétation des profils IFA.

Des études préliminaires ont décrit 9 sous-types d'antigènes mitochondriaux, dénommés M1-M9.¹² Les principaux auto-antigènes ciblés par les sérums des patients atteints de PBC reconnaissent la fraction antigénique M2. Les éléments principaux de l'antigène M2 font partie du complexe de la 1-oxo-déshydrogénase acide. Les antigènes spécifiques ont été identifiés comme étant les sous-unités E2 du complexe pyruvate déshydrogénase (PDC-E2), du complexe à chaîne ramifiée 2-oxo déshydrogénase acide (BCOADC-E2), et du complexe 2-oxo glutarate déshydrogénase (OGDC-E2).¹³ L'identification de ces antigènes a permis le développement de dosages ELISA. Les tests ELISA se sont avérés plus sensibles que les tests IFA.¹⁴⁻¹⁷ Les tests ELISA anti-M2 de première génération utilisaient le PDC-E2 comme substrat principal afin de détecter les anticorps spécifiques de la PBC. Alors que 80-90 % des patients ayant une PBC histologiquement démontrée ont des anticorps anti-PDC-E2, environ 10 % des patients atteints de PBC ne réagissent qu'avec le BCOADC-E2 et/ou le OGDC-E2.^{18,19} Gershwin et Leung ont développé et breveté un clone hybride doté d'une triple expression (« MIT3 ») qui exprime les épitopes immunodominants du PDC-E2, du BCOADC-E2 et du OGDC-E2.^{11, 15, 16, 19} Le test ELISA basé sur le MIT3 a montré qu'il disposait de performances améliorées par rapport au test IFA et au test ELISA conventionnel basé sur le PDC-E2 ; il a permis de détecter des AMA dans deux tiers des sérums qui étaient « AMA négatifs » (par IFA) chez les patients atteints de PBC.^{15, 16} Comme la présence des AMA peut précéder le développement de la maladie symptomatique, la possibilité d'identifier de façon plus précise la présence des marqueurs de la PBC peut contribuer à un diagnostic et à un traitement plus précoces et ainsi ralentir la progression de la maladie.^{7,8,9}

Principe du test

L'antigène recombinant purifié par affinité (MIT3) contenant les parties immunodominantes du PDC-E2, du BCOADC-E2 et du OGDC-E2 est lié aux puits d'une plaque de micropuits en polystyrène dans des conditions qui permettent de conserver à l'antigène son état natif. Des contrôles prédilués et des sérums de patients dilués sont ajoutés dans des puits distincts afin de permettre à tous les auto-anticorps mitochondriaux 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 autoanticorps 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 échantillon et celle des puits de contrôle.

Contenu du coffret

1. Plaque ELISA de micropuits en polystyrène revêtus d'antigène recombinant purifié MIT3, avec portoir de 12 barrettes de 8 micropuits en polystyrène sécables, dans un sachet d'aluminium avec un dessiccant
2. ELISA Negative Control, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain sans anticorps humains anti-Mitochondries M2, dans du tampon avec du stabilisateur
3. M2 EP (MIT3) ELISA Low Pos., 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps humains anti-Mitochondries M2, dans du tampon avec du stabilisateur
4. M2 EP (MIT3) ELISA High Pos., 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps humains anti-Mitochondries M2, dans du tampon avec du stabilisateur
5. 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
6. 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
7. HRP IgG Conjugate, 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
8. TMB Chromogen, avec stabilisateurs, 1 flacon de 10 ml
9. 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 cancérigène dans l'état de Californie.
2. Tout le matériel d'origine humaine 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.²⁰
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. Éviter 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. Éviter tout contact avec la peau ou les yeux et toute inhalation.
6. La solution d'arrêt HRP est une solution diluée d'acide sulfurique. Éviter 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. Éviter 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 diagnostique 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 dessiccant 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 inapproprié 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 dessiccant, bien refermé et stocké à 2-8°C.
3. La solution de tampon diluée reste stable une semaine à 2-8°C.

Echantillons

Ce test doit être réalisé avec des sérums comme échantillons. L'addition d'azide ou d'autres conservateurs aux échantillons peut affecter le bon déroulement de la procédure. Ne pas utiliser des échantillons microbiologiquement contaminés, traités par la chaleur, ou contenant des particules visibles. Les échantillons ou sérums nettement hémolysés, ictériques ou lipémiques doivent être évités.

Après prélèvement, le sérum doit être séparé du culot. Le document H18-A3 du 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 | M2 EP (MIT3) ELISA plate (12-1 x 8 wells), with holder |
| 1 | 1.2mL prediluted ELISA Negative Control |
| 1 | 1.2mL prediluted M2 EP (MIT3) ELISA Low Pos. |
| 1 | 1.2mL prediluted M2 EP (MIT3) ELISA High Pos. |
| 1 | 50mL HRP Sample Diluent |
| 1 | 25mL HRP Wash Concentrate (40x) |
| 1 | 10mL HRP IgG Conjugate, (goat), anti-human IgG |
| 1 | 10mL TMB Chromogen |
| 1 | 10mL HRP Stop Solution, 0.344M Sulfuric Acid |

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 sérums des patients en les diluant au 1/101 dans le diluant d’échantillon (5µl dans 500µl). Les sérums doivent être utilisés dans les 8 heures qui suivent leur dilution. **Ne pas diluer** les contrôles ELISA fortement positif, faiblement positif en M2 EP (MIT3) et négatif.
- 4. La détermination de la présence ou de l’absence de la M2 (MIT3) en unités arbitraires nécessitent deux puits pour chacun des trois contrôles et un ou deux puits pour chacun des sérums de patients. Il est recommandé de tester les échantillons en double.

Exécution du test

- 1. **PORTER TOUS LES REACTIFS ET LES ECHANTILLONS 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 dessiccant, fermer hermétiquement pour éviter toute condensation de vapeur d’eau.**
- 2. Distribuer 100 µl de chacun des contrôles ELISA fortement, faiblement positifs en M2 EP (MIT3) et négatif **pré-dilués** et de sérums 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 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 EVITER 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 (DO) 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 M2 EP (MIT3), faiblement positif en M2 EP (MIT3) 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 en M2 EP (MIT3), ELISA faiblement positifs M2 EP (MIT3) 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 sérums humains 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 M2 EP (MIT3) pré-dilué doit être supérieure à celle du contrôle ELISA faiblement positif en M2 EP (MIT3) pré-dilué. D’autre part, la densité optique du contrôle ELISA faiblement positif en M2 EP (MIT3) doit être supérieure à celle du contrôle ELISA négatif pré-dilué.
 - b. La densité optique du contrôle ELISA fortement positif en M2 EP (MIT3) 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 M2 EP (MIT3) 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 M2 EP (MIT3) permettent de contrôler le bon fonctionnement des tests. Le Contrôle ELISA fortement positif en M2 EP (MIT3) n’assure pas la précision de la valeur seuil du test.
 - e. L’utilisateur du test peut se référer au document C24-A2 du NCCLS pour des informations supplémentaires concernant le contrôle qualité.²¹

Calcul des résultats

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 M2 EP (MIT3).

Valeur de l’échantillon
(unités)

=

DO de l’échantillon

M2 EP (MIT3) ELISA faible positif DO

x

valeur du contrôle faible

(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 sériées 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.

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 sont jugés négatifs, douteux ou positifs selon le tableau ci-dessous :

	Unités
Négatif	≤ 20
Douteux	20,1 - 24,9
Positif	≥ 25

1.

Un résultat positif indique la présence d’anticorps Mitochondries et la possibilité de cirrhose biliaire primaire.

2.

Un résultat négatif indique l’absence d’anticorps Mitochondries 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 Inova QUANTA Lite M2 EP (MIT3) ELISA. Les valeurs d’anti-M2 EP (MIT3) obtenues avec des tests de différents fabricants ne sont pas interchangeables. Le taux d’anti-IgG trouvé n’est pas corrélé à une titration en point final.”

Limites du test

1.

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.
2.

Tous les patients atteints de cirrhose biliaire primaire ne sont pas anticorps mitochondries.
3.

Les résultats obtenus à l’aide de ce test devront être corrélés avec les signes cliniques et d’autres tests sérologiques.
4.

Les performances du coffret pour les échantillons autres que les sérums n’ont pas été établies.

Performances

La prévalence de la CBP va d'une estimation de 2 pour 100 000 au Japon et en Australie à 40 pour 100 000 aux Etats-Unis.^{3,6} Bien qu’il soit généralement admis que les anticorps anti-mitochondriaux sont présents chez 90-95 % des patients atteints de PBC, la fréquence de détection des anticorps dépend de la cohorte étudiée et la sensibilité peut n’être que de 72 %.¹¹ La spécificité des AMA par IFA pour la PBC varie de 95 à 97 %.¹¹

Valeur normale

Anticorps anti-M2 (MIT3) chez les individus sains asymptomatiques

Un panel de 520 individus, sains, asymptomatiques, a fait l’objet d’une recherche des anticorps M2 EP (MIT3) avec le test QUANTA Lite M2 EP (MIT3) ELISA. Les données relatives à l’âge et au sexe étaient disponibles pour 299 des échantillons. Les sujets étaient âgés de 18 à 78 ans et comportaient 150 hommes et 149 femmes. La valeur moyenne pour cette population a été de 7,6 unités, la valeur médiane de 6,0 unités. La spécificité du dosage a été de 98,5 % (512/520) pour les sujets normaux. Deux échantillons réactifs ont présenté des profils d’AMA clairs par examen IFA.

Performances spécifiques

La fréquence des anticorps M2 (MIT3) détectés par le test QUANTA Lite M2 EP (MIT3) ELISA sur un total de 980 échantillons PBC (978) certains ou PBC/Hépatite auto-immune (AIH) (2) regroupés à partir de plusieurs cohortes cliniques est présentée dans le Tableau 1. Les échantillons provenant d’AIH, connus pour être PBC AMA-négatifs ou provenant de patients dont la maladie suspectée n’a pas pu être confirmée ont été exclus. La sensibilité globale du dosage a été de 87,3 % (856/980). La spécificité du dosage a été de 98,7% (590/598). La valeur prédictive positive a été de 99,1 % et la valeur prédictive négative a été de 82,6 %. Les valeurs moyenne et médiane pour tous les échantillons non-PBC ou PBC/AIH ont été de 7,5 et 5,9 unités respectivement.

Tableau 1 : Sensibilité du test QUANTA Lite M2 EP (MIT3) ELISA

N=1578	QUANTA Lite M2 EP (MIT3) ELISA			
Groupe de patients	n=	pos	equiv	neg
PBC (967) or PBC/AIH (13)	980	856	2	122
Contrôles sains (520);				
Cholangite sclérosante primitive-PSC (47),				
Autres contrôles pathologiques (31)	598	8	4	586

Sensibilité: 87,3% (856/980); 95% Intervalle de confiance (CI): 85,1% to 89,4%
Spécificité: 98,7% (590/598); 95% CI: 97,4% to 99,4%

Réactions croisées

Les sérums provenant de 155 patients atteints d'affections hépatiques non-PBC (70 AIH, 46 PSC, 8 AIH/PSC) et de maladies auto-immunes ou infectieuses (3 LKM-1, 2 SLA, 3 GPA, 3 chromatine, 3 ASCA, 2 Sm, 2 RNP, 2 SS-A, 2 SS-B, 2 Scl-70, 2 Jo-1, 1 SLE, 2 HCV, 2 affections hépatiques non-PBC suspectées) ont été testés avec le QUANTA Lite M2 EP (MIT3) ELISA afin d'évaluer la spécificité du dosage. Aucun des sérums provenant de maladies auto-immunes ou infectieuses n'a été interprété comme étant positif par le test QUANTA Lite M2 EP (MIT3) ELISA. Cinq échantillons AIH ont été positifs, mais ces patients pouvaient présenter un syndrome AIH/PBC non diagnostiqué ou évolutif. Tous les échantillons AIH ou AIH/PSC ont été exclus des calculs de spécificité.

Précision

Les performances intra-essai ont été évaluées en testant 6 échantillons au total 6 fois chacun.

Tableau 2 : Performances intra-essai du test QUANTA Lite M2 EP (MIT3) ELISA

	A	B	C	D	E	F
Unités de la moyenne	123,8	7,3	55,4	11,8	168,2	8,1
Écart type	3,46	0,95	3,14	0,96	2,55	0,78
Coefficient de variation %	2,8	13,0	5,7	8,1	1,5	9,7













Les performances entre dosages ont été mesurées en traitant en double 5 échantillons, le kit des contrôles fortement positifs (HPC) et le contrôle négatif (NC) deux fois par jour (une fois le matin et une fois l'après-midi) pendant 3 jours.

Tableau 3 : Performances inter-essais du test QUANTA Lite M2 EP (MIT3) ELISA

	HPC	NC	A	B	C	D	E
Unités de la moyenne	112,7	2,2	110,3	7,8	54,4	11,6	160,3
Écart type	2,98	0,16	2,56	1,27	1,57	0,61	4,30
Coefficient de variation %	2,6	7,4	2,3	16,2	2,9	5,3	2,7

QUANTA Lite, Inova et Inova Diagnostics sont des marques d'Inova Diagnostics, Inc. © 2019 Inova Diagnostics, Inc. Tous droits réservés.

Symboles utilises

	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. Kaplan, M. M. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 335, 1570-1580 (1996).
2. Heathcote, E. J. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Diseases practice guidelines. *Hepatology* 31, 1005-1013 (2000).
3. Feld, J. J. & Heathcote, E. J. Epidemiology of autoimmune liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 18, 1118-1128 (2003).
4. Talwalkar, J. A. & Lindor, K. D. Primary biliary cirrhosis. *Lancet* 362, 53-61 (2003).
5. Jones, D. E., Watt, F. E., Metcalf, J. V., Bassendine, M. F. & James, O. F. Familial primary biliary cirrhosis reassessed: a geographically-based population study. *J Hepatol* 30, 402-407 (1999).
6. Kim, W. R. et al. Epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis in a US community. *Gastroenterology* 119, 1631-1636 (2000).
7. Metcalf, J. V. et al. Natural history of early primary biliary cirrhosis. *Lancet* 348, 1399-1402 (1996).
8. Kisand, K. E. et al. The follow-up of asymptomatic persons with antibodies to pyruvate dehydrogenase in adult population samples. *J Gastroenterol* 36, 248-254 (2001).
9. Prince, M., Chetwynd, A., Newman, W., Metcalf, J. V. & James, O. F. Survival and symptom progression in a geographically based cohort of patients with primary biliary cirrhosis: follow-up for up to 28 years. *Gastroenterology* 123, 1044-1051 (2002).
10. Walker, J. G., Doniach, D., Roitt, I. M. & Sherlock, S. Serological Tests in Diagnosis of Primary Biliary Cirrhosis. *Lancet* 39, 827-831 (1965).
11. Muratori, P. et al. 'True' antimitochondrial antibody-negative primary biliary cirrhosis, low sensitivity of the routine assays, or both? *Clin Exp Immunol* 135, 154-158 (2004).
12. Berg, P. A. & Klein, R. Mitochondrial antigens and autoantibodies: from anti-M1 to anti-M9. *Klin Wochenschr* 64, 897-909 (1986).
13. Fussey, S. P., Guest, J. R., James, O. F., Bassendine, M. F. & Yeaman, S. J. Identification and analysis of the major M2 autoantigens in primary biliary cirrhosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 85, 8654-8658 (1988).
14. Vergani, D. & Bogdanos, D. P. Positive markers in AMA-negative PBC. *Am J Gastroenterol* 98, 241-243 (2003).
15. Miyakawa, H. et al. Detection of antimitochondrial autoantibodies in immunofluorescent AMA-negative patients with primary biliary cirrhosis using recombinant autoantigens. *Hepatology* 34, 243-248 (2001).
16. Moteki, S. et al. Use of a designer triple expression hybrid clone for three different lipoyl domain for the detection of antimitochondrial autoantibodies. *Hepatology* 24, 97-103 (1996).
17. Fritzler, M. J. & Manns, M. P. Anti-mitochondrial autoantibodies. *Clin Appl Immunol Rev* 3, 87-113 (2002).
18. Nishio, A., Keeffe, E. B. & Gershwin, M. E. Immunopathogenesis of primary biliary cirrhosis. *Semin Liver Dis* 22, 291-302 (2002).
19. Leung, P. S. et al. Use of designer recombinant mitochondrial antigens in the diagnosis of primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 15, 367-372 (1992).
20. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, Fourth Edition, HHS Pub#(CDC) 93-8395, (CDC/NIH, 1999).
21. Internal Quality Control: Principles and Definitions, Approved Guideline, NCCLS Doc C24-A2 (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1991).

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.): 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

624540FR

Décembre 2019
Révision 2

