

QUANTA Lite[®] Chromatin ELISA

Uniquement pour "Diagnostics *In-Vitro*"

Complexité de CLIA: Haut



REF

708710

Rx Only

Application

QUANTA Lite Chromatin est un test ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) pour la détection semi-quantitative des anticorps anti-nucléosome dans le sérum humain. La présence d'anticorps anti-nucléosome peut être utilisée conjointement aux signes cliniques et à d'autres tests de laboratoire pour faciliter le diagnostic du Lupus Induit Médicamenteux (LIM) et Lupus Erythémateux Disséminé (LED).

Informations concernant le test

Les nucléosomes sont localisés dans le noyau des cellules et plus précisément dans l'ADN natif enroulé autour de l'octamère Histone (H2A-H2B-H3-H4)₂, associé avec l'Histone H1 et quelques protéines non-Histone. Les autoanticorps anti-Nucléosome sont détectés par différentes techniques dont la cellule LE¹, l'immunoprécipitation², l'immunofluorescence de cellules extraites à l'acide et reconstituées avec de l'Histone³ et l'ELISA^{4,5}. Les anticorps anti-Nucléosome sont surtout rencontrés chez les sujets atteints de LED^{3, 6,7,8}, de LIM^{9,10} et occasionnellement chez des patients atteints d'autres pathologies¹¹. Les anticorps anti-chromatine sont également connus sous le nom d'anti-nucléosome^{5,8,11}, anti-ADN (H2A-H2B)^{9,13}, anti-DNP^{3,4}, et facteur cellulaire LE^{1,11}.

L'une des utilisations principales de ce test est l'aide au diagnostic du LIM. Les anticorps anti-Histone et anti-Nucléosome sont retrouvés chez les patients atteints de Lupus induit par la procainamide^{9,12,3}. Cependant, les anticorps anti-Histone sont aussi retrouvés chez les patients effectivement traités à la procainamide mais sans symptôme de Lupus^{9,13}. Au contraire, les anticorps anti-Nucléosome se rencontrent beaucoup moins fréquemment et à des titres plus faibles chez ces patients asymptomatiques^{9, 13}. De surcroît, les patients atteints d'un Lupus induit par des médicaments comme la quinidine, la penicillamine, la méthyldopa, l'acébutalol ont des anticorps anti-Nucléosome mais pas des anti-Histone^{9,10}. Donc la recherche des anti-Nucléosome est à la fois plus sensible et plus spécifique pour les LIM que la recherche des anti-Histone. De plus, il a été noté que les anticorps anti-Nucléosome sont détectés chez les patients traités à la procainamide peu de temps avant de développer les symptômes du Lupus¹³.

Un grand nombre d'études ayant eu recours à des tests pour la recherche d'anticorps anti-Nucléosome par la technique ELISA ont montré que 50% à 90% des patients LED ont des anticorps anti-nucléosomes^{6,7,8}. Ces pourcentages sont les mêmes que ceux trouvés à l'issue de la recherche sur cellules LE¹⁴. En général, il y a plus de patients LED positifs en anticorps anti-Nucléosome qu'en anticorps anti-Histone ou anti-ADN^{6,7,8,11,14}. La présence d'anticorps anti-Nucléosome a aussi été reliée à la protéinurie chez les patients LED¹.

Les anticorps anti-Nucléosome sont dirigés contre des épitopes du complexe natif Histone-ADN, de l'ADN natif et contre les portions exposées des histones inclus dans les nucléosomes^{7,9,11}. Les anticorps anti-ADN natif représentent donc un sous-ensemble des anticorps anti-nucléosomes. Cependant, certains anticorps anti-Histone sont dirigés contre des épitopes des Histones dénaturés qui ne sont pas exposés dans les nucléosomes¹¹.

Principe du test

Les nucléosomes hautement purifiés (qui consistent en un brin d'ADN enroulé autour du corps représenté par l'octamère Histone : (H2A-H2B-H3-H4)₂, sont fixés sur les puits d'une plaque de microtitration en polystyrène dans des conditions qui préservent son état natif. L'Histone H1 ainsi que les protéines non-histone ont été séparés des nucléosomes durant le processus de purification. Les contrôles pré-dilués et les sérums de dilués patients sont ajoutés dans différents puits. Une étape d'incubation permet la liaison entre les anticorps anti-Nucléosome présents dans le sérum et l'antigène immobilisé dans le puits. 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 de microtitration ELISA revêtue d'antigène Nucléosome avec portoir de 12 barrettes de 8 micropuits en polystyrène sécables, dans un sachet d'aluminium avec un dessiccant
2. Contrôle Négatif pré-dilué, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain sans anticorps humains anti-Nucléosome, dans du tampon avec du stabilisateur
3. Contrôle ELISA Nucléosome faiblement positif pré-dilué, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps humains anti- Nucléosome, dans du tampon avec du stabilisateur
4. Contrôle ELISA Nucléosome fortement positif pré-dilué, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps humains anti-Nucléosome, dans du tampon avec du stabilisateur
5. Diluant d'échantillons HRP, teinté en rose, 1 flacon de 50 ml contenant du tampon Tris salin, du Tween 20, des stabilisateurs de protéines et des conservateurs
6. Tampon de lavage HRP concentré 40X – tampon Tris salin avec du Tween 20, teinté de rouge, 1 flacon de 25 ml. Consulter le paragraphe "Méthode" pour la dilution.

7. Conjugué IgG-HRP, 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 Chromogène, avec stabilisateurs, 1 flacon de 10 ml
9. Solution d'arrêt HRP, 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.¹⁵
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 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. 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-A2 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 Plaque microtitration ELISA Nucléosome (12-1 x 8 puits), avec support
- 1 1,2 ml Contrôle ELISA Négatif pré-dilué
- 1 1,2 ml Contrôle ELISA faiblement positif Nucléosome pré-dilué
- 1 1,2 ml Contrôle ELISA fortement positif Nucléosome pré-dilué
- 1 50 ml diluant HRP pour échantillons
- 1 25 ml tampon de lavage HRP concentré 40X
- 1 10 ml conjugué anti-IgG humaines de chèvre
- 1 10 ml substrat TMB
- 1 10 ml solution d'arrêt HRP (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 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 Nucléosome et négatif.
- 4. La détermination de la présence ou de l'absence de la Nucléosome 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 Nucléosome 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 Nucléosome, faiblement positif en Nucléosome 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 Nucléosome, ELISA faiblement positifs en Nucléosome 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 Nucléosome pré-dilué doit être supérieure à celle du contrôle ELISA faiblement positif en Nucléosome pré-dilué. D’autre part, la densité optique du contrôle ELISA faiblement positif en Nucléosome doit être supérieure à celle du contrôle ELISA négatif pré-dilué.
 - b. La densité optique du contrôle ELISA fortement positif en Nucléosome 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 Nucléosome 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 Nucléosome permettent de contrôler le bon fonctionnement des tests. Le Contrôle ELISA fortement positif en Nucléosome n’assure pas la précision de la valeur seuil du test.
 - e. L’utilisateur du test peut se référer au document C24-A du NCCLS pour des informations supplémentaires concernant le contrôle qualité.

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 Nucléosome.

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

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 peuvent être interprétés comme négatifs, modérément ou fortement positif selon les valeurs en unités détaillées ci-dessous:

	Unités
Négatif	<20
Modérément positif	20 – 60
Fortement positif	>60

1. Un résultat positif indique la présence d’anticorps anti-nucléosome et la possibilité du Lupus Induit Médicamenteux (LIM) et Lupus Erythémateux Disséminé (LED).
2. Un résultat négatif indique l’absence d’anticorps anti-nucléosome 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 Chromatin. Les valeurs d’anti-Nucléosome 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. Les patients LIM ou LED n’ont pas tous dans leur sérum des anticorps anti-nucléosomes.
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

Valeur normale

210 sérums pris au hasard chez des volontaires sains ont été utilisés pour tester la spécificité de la méthode ELISA QUANTA Lite Chromatin. La population était composée de 68% de femmes âgées en moyenne de 38 ans (de 18 à 75 ans). De plus, 29 sérums de patients cardiaques mais non traités à la procainamide dans la même tranche d'âge que les patients traités furent aussi testés. 208 patients ont été rendus négatifs à l'issue du test du coffret QUANTA Lite Nucléosome, lui conférant ainsi une spécificité de 99%. Les 2 sérums rendus positifs ont montré une activité de 24 et 22 Unités (pour une valeur seuil à 20 Unités). 90% de ce panel a montré au plus une valeur de 10 Unités. Tous les patients cardiaques furent rendus négatifs.

Sensibilité et spécificité relatives

Comparaison Avec La Technique ELISA de Detection des anti-Histones

Dans la technique ELISA de détection des anti-Histones, ce sont les Histones individuels dénaturés (H1, H2A, H2B, H3 et H4) qui sont immobilisés sur la plaque.

Dans la technique ELISA de détection des anti-Nucléosomes, Ce sont les nucléosomes dénués de H1 (c'est-à-dire l'octamère Histone (H2A-H2B-H3-H4)₂ autour duquel s'enroule les 145 paires de base d'ADN) qui sont immobilisés sur la plaque. Une comparaison détaillée de ces 2 techniques est donnée dans la référence bibliographique 11. En résumé, les 2 antigènes partagent en commun certains épitopes importants. En particulier, les parties trypsine sensibles des Histones qui sont exposées à la fois dans les nucléosomes et les Histones dénaturés, réagissent avec les anticorps des patients LED et aussi LIM. Cependant, les épitopes inclus dans le dimère natif H2A-H2B ou le complexe ADN-(H2a-H2B) sont présents dans les nucléosomes mais pas dans les Histones dénaturés. Or les anticorps rencontrés chez les patients LED et LIM reconnaissent ces épitopes. A l'inverse, certains épitopes qui sont exposés dans les Histones dénaturés ne le sont pas dans les nucléosomes. Ces épitopes sont reconnus par des patients traités à la procainamide mais sont asymptomatiques.

La présence d'ADN dans les nucléosomes explique que les anticorps de patients LED reconnaissent les nucléosomes plus que les Histones. Cependant, bien que les anticorps anti-ADN soient rarement rencontrés chez des patients sans LED, il y a rarement des faux positifs anti-Nucléosome lors de la détection des anti-Nucléosome dus à la réactivité anti-ADN.

Comme on peut le voir dans les 2 tableaux ci-dessous, la détection des anti-Nucléosomes par ELISA est plus sensible et plus spécifique que celle des anti-Histones par ELISA pour ce qui concerne la différenciation des patients traités à la procainamide symptomatiques et asymptomatiques. Pour les patients symptomatiques du Lupus, la détection des anti-Nucléosome par ELISA montre 20 positifs sur 26 alors que la détection des anti-Histones montre seulement 19 positifs. Une partie de ces échantillons montre plus de réactivité à l'issue de la détection des anti-Nucléosomes par ELISA que des anti-Histones par ELISA. En ce qui concerne les patients traités à la procainamide mais asymptomatiques du lupus, seulement 17 sur 67 furent rendus positifs en Nucléosome ELISA dont 4 seulement fortement positifs. Alors que la détection des anti-Histones par la technique ELISA a rendu 34 positifs dont 21 fortement réactifs. La recherche des anticorps anti-Nucléosomes par ELISA différencie donc beaucoup mieux les groupes de patients symptomatiques des asymptomatiques que celle des anti-Histones^{9,10,13}.

Comparaison des patients symptomatiques traités à la procainamide sur QUANTA Lite Nucléosome et QUANTA Lite Histone :

26 patients Symptomatiques	Nucléosomes ELISA			
Histone ELISA		Négatifs	+ Modérés	+ Forts
	Négatifs	6	1	0
	+ Modérés	0	1	0
	+ Forts	0	1	17

Comparaison des patients asymptomatiques traités à la procainamide sur QUANTA Lite Nucléosome et QUANTA Lite Histone :

67 patients asymptomatiques	Nucléosomes ELISA			
Histone ELISA		Négatifs	+ Modérés	+ Forts
	Négatifs	32	1	0
	+ Modérés	8	5	0
	+ Forts	10	7	4

De plus, la technique de détection des anti-Nucléosomes par ELISA est plus sensible que celle des anti-Histones pour la détection des patients LED. Un pourcentage plus élevé a été obtenu d'anti-Nucléosomes positifs dont de nombreux fortement positifs. Ces résultats résumés dans le tableau ci-dessous confirment ceux de la littérature^{6,7,8}.

Comparaison des patients LED sur QUANTA Lite Nucléosome et QUANTA Lite Histone :

45 patients LED	Nucléosomes ELISA			
Histone ELISA		Négatifs	+ Modérés	+ Forts
	Négatifs	14	1	1
	+ Modérés	1	6	4
	+ Forts	0	1	17

En combinant les données de l'ensemble des résultats ci-dessus ainsi que ceux obtenus sur une population saine et des contrôles cardiaques, les sensibilité et spécificité relatives de la technique QUANTA Lite Chromatin par rapport à la technique QUANTA Lite Histone se résument ainsi :

Nombre d'échantillons		Nucléosomes ELISA	
		Négatifs	Positifs
Histone ELISA	Négatifs	280	5
	Positifs	28*	67

Sensibilité relative : 70% - Spécificité relative : 98%

*Sur l'ensemble de ces 28 sérums, 18 étaient des patients asymptomatiques traités à la procainamide, 8 des volontaires sains et 1 un contrôle cardiaque.

Sensibilité et spécificité clinique

Groupe de patients	Nucléosome Positifs		
	Nombre	Nb	(%)
Volontaires sains	210	2	1%
LIM symptomatique (traités à la procainamide)	26	20	77%
Patients asymptomatiquestraités à la procainamide	67	17	25%
Patients cardiaques	29	0	0%
LED	48	33	69%

Sur la base de l'étude ainsi résumée, la sensibilité clinique du coffret QUANTA Lite Chromatin ELISA pour l'ensemble des patients LED et LIM est de 72%, et sa spécificité clinique est de 94%. Ces valeurs sont en accord avec celles de la littérature¹¹.

Précision

Intra- essais

Afin d'évaluer la précision du coffret QUANTA Lite Chromatin ELISA, 5 sérums furent passés 18 fois dans une même série (Répétabilité) et sur 5 jours différents (Reproductibilité). Les moyennes, écarts type (ET) et les coefficients de variations (CV) de chaque échantillon sont résumés dans les tableaux ci-dessous.

	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5
Moyenne	61 U	49 U	91 U	75 U	133 U
ET	2,9 U	2,7 U	4,1 U	5,2 U	5,1 U
CV	4,8%	5,6%	4,5%	7,0%	3,9%

Afin de tester la répétabilité du coffret QUANTA Lite Chromatin ELISA sur des valeurs proches de la valeur seuil, 5 échantillons furent passés 14 fois sur la même plaque.

	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5
Moyenne	22 U	26 U	30 U	22 U	21 U
ET	0,9 U	1,4 U	1,4 U	0,9 U	0,9 U
CV	4,3%	5,3%	4,5%	3,9%	4,4%

Inter-essais












Cinq échantillons positifs ont été testés une fois par jour, pendant cinq jours.

	N° 1	N° 2	N° 3	N° 4	N° 5
Moyenne	67 U	57 U	110 U	84 U	167 U
DS	4,3 U	4,1 U	8,6 U	4,7 U	10,2 U
CV	6,4%	7,1%	7,8%	5,6%	6,1%

QUANTA Lite, Inova et Inova Diagnostics sont des marques d'Inova Diagnostics, Inc. © 2015 Inova Diagnostics, Inc. Tous droits réservés.

Symbols Used

Legende der Symbole - Simboli utilizzati - Símbolos utilizados - Symboles utilises
Símbolos utilizados - σύμβολα που χρησιμοποιούνται

	In Vitro diagnostic medical device In-vitro-Diagnostikum Dispositivo medico per la diagnostica in vitro Producto sanitario para diagnóstico in vitro Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> Dispositivo médico para diagnóstico In Vitro In Vitro διαγνωστική ιατρική συσκευή
	European Conformity Europäische Konformität Conformità agli standard europei Conformidad europea Conformité aux normes européennes Conformidade Europeia Συμβατότητα με τη νομοθεσία της Ε.Ε.
	European Authorized Representative EU-Bevollmächtigter Rappresentante autorizzato per l'Europa Representante europeo autorizado Représentant européen agréé Representante Europeu Autorizado Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος για την Ευρώπη
	Prescription Only Verschreibungspflichtig Solo su prescrizione Sólo con receta Sur prescription Apenas com Receita Médica Χορηγείται μόνο κατόπιν ιατρικής συνταγής
	Temperature Limitation Temperaturbegrenzung Limitazione di temperatura Límites de temperatura Limite de température Limite de Temperatura Περιορισμοί θερμοκρασίας
	Batch Code Chargennummer N° lotto Código de lote Code du lot Código do Lote Κωδικός παρτίδας
	Catalogue or part number Katalog- bzw. Artikelnummer Numero di catalogo o del componente Número de catálogo o componente Numéro de catalogue ou référence Número de catálogo ou peça Αριθμός καταλόγου ή αριθμός προϊόντος
	Manufacturer Hersteller Fabbricante Fabricante Fabricant Fabricante Κατασκευαστής
	Use by Verwendbar bis Data di scadenza Caducidad Date de péremption Utilizar até Ανάλωση κατά προτίμηση έως
	Contains Sufficient Reicht für Contiene sufficiente Contenido suficiente para Contenu suffisant pour Contém Suficiente Περιέχει επαρκές υλικό για
	Consult instructions for use Gebrauchsanweisung lesen Consultare le istruzioni per l'uso Consulte las instrucciones de uso Consulter les instructions d'utilisation. Consultar as instruções de utilização Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης

Références

1. Lachman PJ: An attempt to characterize the lupus erythematosus cell antigen. *Immunology* 4:153-163, 1961.
2. Robitaille P, et al.: Relationship between deoxyribonucleo-protein and deoxyribonucleic acid antibodies in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 52:316-323, 1973.
3. Fritzler MJ and Tan EM: Antibodies to histones in drug-induced and idiopathic lupus. *J Clin Invest* 62:560-567, 1978.
4. Halbert SP, et al.: Studies on autoantibodies to deoxyribonucleic acid and deoxyribonucleoprotein with enzyme immunoassay (ELISA). *J Lab Clin Med* 97: 97-111, 1981.
5. Burlingame RW and Rubin RL: Subnucleosome structures as substrates in enzyme-linked immunosorbent assays. *J Immunol Methods* 134: 187-199, 1990.
6. Karsh J, et al.: Anti-DNA, anti-deoxyribonucleoprotein and rheumatoid factor in patients with systemic lupus erythematosus, Sjogren's syndrome and rheumatoid arthritis. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 68: 60-69, 1982.
7. Burlingame RW, et al.: The central role of chromatin in the autoimmune responses to histones and DNA in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 94: 184-192, 1994.
8. Chabre H, et al.: Presence of nucleosome-restricted antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 38: 1485-1491, 1995.
9. Burlingame RW and Rubin RL: Drug-induced anti-histone autoantibodies display two patterns of reactivity with substructures of chromatin. *J Clin Invest* 88: 680-690, 1991.
10. Rubin RL, et al.: Autoantibodies associated with lupus induced by diverse drugs target a similar epitope in the (H2A-H2B)-DNA complex. *J Clin Invest* 90: 165-173, 1992.
11. Burlingame RW: The clinical utility of antihistone antibodies: Autoantibodies reactive with chromatin in systemic lupus erythematosus and drug-induced lupus. *Clin Lab Med* 17: 367-378, 1997.
12. Rubin RL: Autoantibody specificity in drug-induced lupus and neutrophil-mediated metabolism of lupus-inducing drugs. *Clin Biochem* 25: 223-234, 1992.
13. Rubin RL, et al.: IgG but not other classes of anti[(H2A-H2)-DNA] is an early sign of procainamide-induced lupus. *J Immunol* 154: 2483-2493, 1995.
14. Tan EM, et al.: The 1982 Revised Criteria for the Classification of Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum* 25: 1271-1277, 1982.
15. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Center for Disease Control/National Institute of Health, 2007, Fifth Edition.

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

Représentant Autorisé:

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

628710FRA

March 2015
Revision 6

