

# QUANTA Lite® LKM-1 ELISA

Uniquement pour "Diagnostics In-Vitro"

Complexité de CLIA: Haut



REF 708745

Rx Only

## Application

QUANTA Lite LKM-1 est un test ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) pour la détection semi-quantitative des anticorps anti-LKM-1 dans le sérum humain. La présence des anticorps anti-LKM-1, conjointement avec les résultats cliniques et autres tests de laboratoire, facilite le diagnostic de l'hépatite auto-immune de type 2

## Informations concernant le test

L'hépatite chronique active auto-immune (HCA) est une maladie hétérogène dont l'étiologie est inconnue.<sup>1</sup> L'hépatite chronique active auto-immune de type 1 (HCA lupoïde) est le type de HCA le plus commun et est caractérisé par une réactivité aux antigènes antinucléaires (ANA), au muscle lisse (SMA) et à l'actine. L'hépatite chronique active auto-immune de type 2 (HCA-2) est caractérisée par la présence d'anticorps au microsome du foie ou du rein (LKM-1) détectés par une immunofluorescence indirecte dans les coupes de tissu des reins et du foie de rongeurs. La réactivité LKM-1 est caractérisée par une coloration du cytoplasme hépatocyte et des tubules du rein proximal mais non du rein distal. Les patients atteints de la maladie HCA de type 2a sont en général des jeunes femmes, atteintes d'une maladie grave, ayant de faibles niveaux d'IgA, faisant preuve d'une bonne réaction au traitement immunsuppressif et ayant une réaction négative au virus de l'hépatite C (VHC).<sup>1,2</sup> L'antigène cible principal des anticorps anti-LKM-1 a été identifié comme le cytochrome P450 2D6, une protéine microsomale décelée dans le réticulum endoplasmique.<sup>3-6</sup> Les anticorps anti-LKM-1 ont été détectés chez un groupe pouvant constituer jusqu'à 8 % des patients atteints d'une infection chronique de VHC.<sup>2,3,7-9</sup> Les épitopes reconnus par les sérums de patients atteints de VHC sont différents de ceux reconnus par HCA-2 et peuvent être des anticorps produits pendant l'évolution de l'infection chronique de VHC plutôt que par l'HCA de type 2.<sup>6,7,10,11</sup> En général, les patients qui ont une réaction positive au LKM-1 et au VHC sont plus âgés, souvent mâles et présentent en général des niveaux moins élevés d'anticorps anti-LKM-1 que les patients atteints d'HCA-2a.<sup>1,2</sup> Les patients ayant une réaction positive au VHC et au LKM-1 peuvent créer une situation plus difficile pour les médecins car les traitements pour le VHC diffèrent de façon significative de ceux pour l'HCA-2.<sup>9,11,12</sup> En plus des anticorps anti-LKM-1, des anticorps au cytochrome P450 2C9 (LKM-2) associés à l'hépatite provoquée par l'acide tiénilique et des anticorps aux transférases uridines diphosphate glucuronosyls (LKM-3) qui ont été associés aux infections par le virus de l'hépatite D ont été identifiés.<sup>3</sup> Des anticorps à l'antigène soluble du foie (SLA) ou à l'antigène du foie-pancréas (LP) sont dits avoir été détectés chez certains patients atteints de HCA qui ont eu une réaction négative à d'autres autoanticorps et peuvent décrire un autre sous-groupe de l'HCA.<sup>1</sup>

## Principe du test

Un antigène partiellement purifié, de pleine longueur, de cytochrome recombinant humain P450 2D6 est fixé aux trous d'une plaque de polystyrène à micropuits dans des conditions permettant de préserver l'antigène dans son état natif. Les contrôles pré-dilués et les sérums de dilués patients sont ajoutés dans différents trous. Une étape d'incubation permet la liaison entre les anticorps anti-LKM-1 présents dans le sérum et l'antigène immobilisé dans le trou. Les molécules non liées aux antigènes sont éliminées par lavage. Un conjugué enzymatique anti-IgG humaine est alors ajouté dans chaque trou 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 trou échantillon et celle des trous de contrôle.

## Contenu du coffret

1. Plaque de microtitration ELISA revêtue un antigène partiellement purifié, de pleine longueur, de cytochrome recombinant humain P450 2D6, avec portoir de 12 barrettes de 8 micropuits 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 humains anti-LKM-1, dans du tampon avec du stabilisateur
3. LKM-1 ELISA Low Positive faiblement positif pré-dilué, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps à cytochrome recombinant humain P450 2D6, dans du tampon avec du stabilisateur
4. LKM-1 ELISA High Positive, fortement positif pré-dilué, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps à cytochrome recombinant humain P450 2D6, 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 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.<sup>13</sup>

3. L'azide de sodium ( $\text{NaN}_3$ ) est utilisé comme conservateur.  $\text{NaN}_3$  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 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 sérum comme échantillons. L'addition d'azide ou d'autres conservateurs aux échantillons peut affecter le bon déroulement de la procédure. Les sérum contaminés par des agents microbiens, prétraités par la chaleur ou contenant des particules visibles ne doivent pas être utilisés. Les sérum ou échantillons hémolysés ou lipémiques sont à éviter.

Après prélèvement, le sérum doit être séparé du culot. Le document H18-A2 du CLSI (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 LKM-1 ELISA Plate (12-1 x 8 puits), avec support
- 1 1,2 ml ELISA Negative Control pré-dilué
- 1 1,2 ml LKM-1 ELISA Low Positive pré-dilué
- 1 1,2 ml LKM-1 ELISA High Positive pré-dilué
- 1 50 ml HRP Sample Diluent
- 1 25 ml HRP Wash Concentrate (40x)
- 1 10 ml HRP IgG Conjugate anti-IgG humaines de chèvre
- 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  $\mu\text{l}$

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 LKM-1 et négatif.
4. La détermination de la présence ou de l'absence de la LKM-1 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. **PORTEZ 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 LKM-1 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 LKM-1, faiblement positif en LKM-1 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 LKM-1, ELISA faiblement positifs en LKM-1 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 LKM-1 pré-dilué doit être supérieure à celle du contrôle ELISA faiblement positif en LKM-1 pré-dilué. D'autre part, la densité optique du contrôle ELISA faiblement positif en LKM-1 doit être supérieure à celle du contrôle ELISA négatif pré-dilué.
  - b. La densité optique du contrôle ELISA fortement positif en LKM-1 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 LKM-1 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 LKM-1 permettent de contrôler le bon fonctionnement des tests. Le Contrôle ELISA fortement positif en LKM-1 n'assure pas la précision de la valeur seuil du test.
  - e. L'utilisateur du test peut se référer au document C24-A du CLSI (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 LKM-1.

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

(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.

## 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, douteux ou positif selon les valeurs en unités détaillées ci-dessous:

	Unités
Négatif	<20,0
Douteux	20,1 – 24,9
Positif	≥25

Les échantillons douteux devraient être retestés avant le rendu des résultats

1. Un résultat positif indique la présence d'anticorps IgG au recombinant humain P450 2D6 et suggère la possibilité d'une hépatite chronique active auto-immune de type 2.
2. Un spécimen ayant des niveaux incertains de LKM-1 IgG ne peut être évalué pour l'état de l'anticorps. Si le résultat reste incertain après un deuxième test, le résultat devrait être noté comme incertain et/ou un nouvel échantillon devrait être prélevé.
3. Un résultat négatif indique qu'il n'y a pas d'anticorps IgG au LKM-1 ou alors des niveaux en-deçà de la limite négative de l'analyse.
4. Les spécimens affichant des DO au-delà de la plage lisible du lecteur de plaque peuvent être enregistrés comme au-delà du DO mesurable le plus élevé divisé par le DO positif faible multiplié par 25 ou ils peuvent être dilués, répétés et une valeur calculée peut être obtenue.
5. Nous suggérons de rendre les résultats avec la remarque suivante: "Les résultats suivants ont été obtenus avec le test ELISA Inova QUANTA Lite LKM-1. Les valeurs d'anti-LKM-1 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. Un résultat LKM-1 négatif n'exclut pas la présence de l'hépatite chronique active auto-immune de type 2.
2. Un résultat négatif pour les anticorps anti-LKM-1 n'exclut pas la présence d'anticorps anti-LKM-1, car la concentration des anticorps peut être inférieure à la limite de détection de l'analyse.
3. Un résultat de test positif indique uniquement la présence d'un anticorps au cytochrome recombinant humain P450 2D6 et n'indique pas nécessairement la présence de l'hépatite chronique active auto-immune de type 2.
4. Une documentation cumulative des caractéristiques socio-démographiques, de la présentation clinique et d'autres épreuves de diagnostic du patient sont nécessaires pour le diagnostic de l'hépatite chronique active auto-immune de type 2.
5. Les anticorps anti-LKM-1 peuvent être détectés chez un nombre réduit de patients par suite d'une infection de VHC et peuvent ne pas être liés au HCA-2. Des spécimens testant positifs au LKM-1 devraient être testés pour une infection au VHC.
6. Les résultats obtenus à l'aide de ce test devront être corrélés avec les signes cliniques et d'autres tests sérologiques.
7. Les performances du coffret pour les échantillons autres que les sérum n'ont pas été établies.

## Performances

L'incidence de l'hépatite chronique active auto-immune de type 2 est estimée représenter entre 5 et 30 cas par million. La maladie est la plus commune entre les âges de 2 et 14 ans et se révèle plus souvent chez les femmes que les hommes (8:1).<sup>14,15</sup>

## Valeur normale

Un panel de 194 spécimens prélevés chez 151 adultes et 43 enfants fut testé à l'aide du kit QUANTA Lite LKM-1 ELISA. Un spécimen était à peine incertain (20,7 unités). Les 193 spécimens restants étaient considérés négatifs. À l'exclusion du spécimen incertain, la spécificité était de 100 % (193/193). La valeur moyenne pour cette population était de 6,3 unités, la médiane était de 5,7 unités et la valeur la plus élevée était de 20,7 unités. L'âge des individus était compris entre 1 et 75 ans.

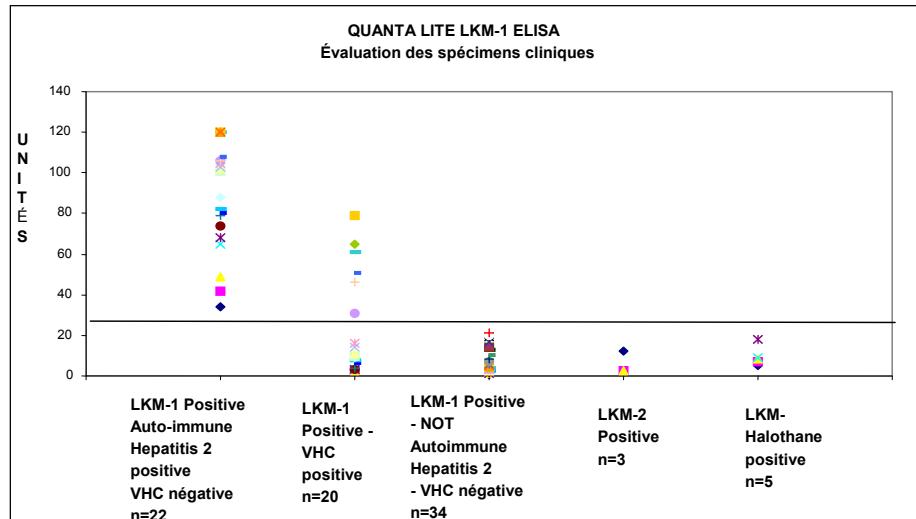
## Caractéristiques spécifiques

### Études cliniques

Dans la première étude, un panel de 84 spécimens définis en clinique fut rassemblé et testé dans un site clinique externe. Les détails des spécimens testés et les résultats de l'étude sont résumés dans la Figure 1. QUANTA Lite LKM-1 ELISA a démontré une sensibilité de 100 % (22/22) pour des spécimens ayant une réaction positive à l'hépatite chronique active auto-immune de type II, une réaction positive au LKM-1 IFA et une réaction négative au VHC. De faibles niveaux de réactivité au LKM-1 ont été enregistrés chez les patients ayant une réaction positive au VHC. Selon QUANTA Lite LKM-1 ELISA, 70 % (14/20) d'un groupe de spécimens LKM-1, IFA+/HCV+ sélectionnés a eu une réaction positive au QUANTA Lite LKM-1 ELISA. Le QUANTA Lite LKM-1 ELISA était spécifique à 100 % (34/34) pour 34 spécimens ayant une réaction positive au LKM-1, IFA mais qui n'avaient pas de réaction clinique positive à l'HCA-2 et pas de réaction positive au VHC. De plus, 3 patients ayant une réaction positive au LKM-2 et 5 patients ayant une réaction positive à l'halothane LKM avaient une réaction négative selon QUANTA Lite LKM-1 ELISA. Une deuxième étude externe a examiné un panel comprenant 4 patients atteints de HCA-2 (âgés de 2, 2, 4 1/2 et 6 ans) et 41 autres spécimens atteints de maladies auto-immunes ou du foie. Les 4 spécimens atteints de HCA-2 étaient considérés positifs. Trois spécimens ayant une réaction positive au VHC avaient également une réaction positive au LKM-1 ELISA

et IFA, un avait une réaction positive uniquement au LKM ELISA. Trois spécimens ayant une réaction positive au VHC avaient également une réaction positive au LKM-1 IFA et ELISA, un avait une réaction positive uniquement au LKM ELISA. Voir « réactivité croisée » pour les autres spécimens testés.

Figure 1



L'étude interne a testé un panel composé de 79 spécimens assemblés à partir de laboratoires de référence et de spécimens stockés sur place. Les résultats des tests par QUANTA Lite LKM-1 ELISA et LKM-1 IFA sont résumés dans le Tableau 1.

Tableau 1

QUANTA LITE LKM-1 ELISA	LKM-1 IFA		
	POS	EQ	NEG
		0	0
	NEG	5	24

Accord général = 91,5 % (65/71) (à l'exclusion des résultats incertains)

## Étude de réactivité croisée

Des spécimens de divers groupes cliniques furent évalués afin de détecter une réactivité croisée potentielle à l'aide de QUANTA Lite LKM-1 ELISA. Les résultats sont présentés dans le Tableau 2.

Tableau 2 : étude de réactivité croisée

Groupe de patients	n=	Pos	Incertain	Nég
VHC *	40	5**	0	35
LKM-2	3	0	0	3
LKM-halothane	5	0	0	5
Antigène soluble du foie (SLA)	5	0	0	5
Hépatite chronique active auto-immune, type 1	15	0	1	14
Maladie de Crohn	6	0	0	6
Collite aiguë	1	0	0	1
Cirrhose (une alcoolique, une non spécifiée)	2	0	0	2
Cirrhose biliaire primitive	1	0	0	1
Cryoglobulinémie	3	0	0	3
Stéatohépatite nonalcoolique	1	0	0	1
Pancréatite post-obstructive	1	0	0	1
Maladie coeliaque	1	0	0	1
Sclérodermie	1	0	0	1
Maladie d'Addison (pos. surrénale)	1	0	0	1
Anticorps anti-îlot de Langerhans (ICA)	2	0	0	2
Décarboxylase à l'acide glutamique (GAD)	2	0	0	2
AMA	8	0	0	8
SMA	3	0	0	3
TPO	9	0	0	9
Sm	1	0	0	1
RNP	1	0	0	1
SSA	1	0	0	1
SSB	1	0	0	1
Scl-70	1	0	0	1
Jo-1	1	0	0	1
Ribosome P	1	0	0	1
Chromatine	1	0	0	1
PCNA	1	0	0	1
ANA/ADN	9	0	0	9
Centromère	1	0	0	1

\* Spécimens ayant une réaction positive au VHC (non sélectionnés pour une réactivité au LKM-1 IFA)

\*\* 4/5 ont une réaction positive au LKM-1 IFA

## Précision

La performance entre les analyses fut évaluée en effectuant 12 tests chacun sur 6 spécimens, dont un spécimen négatif, un incertain, un à peine positif, un positif faible, un positif moyen, un positif fort. Les résultats sont résumés dans le Tableau 3.

	Sérums 1	Sérums 2	Sérums 3	Sérums 4	Sérums 5	Sérums 6
Moyenne	61,7	13,5	4,9	12,9	43,6	66,2
Ecart type.	2,6	0,8	0,3	0,4	0,8	2,8
% VC	4,2	5,8	5,3	3,2	1,8	4,3

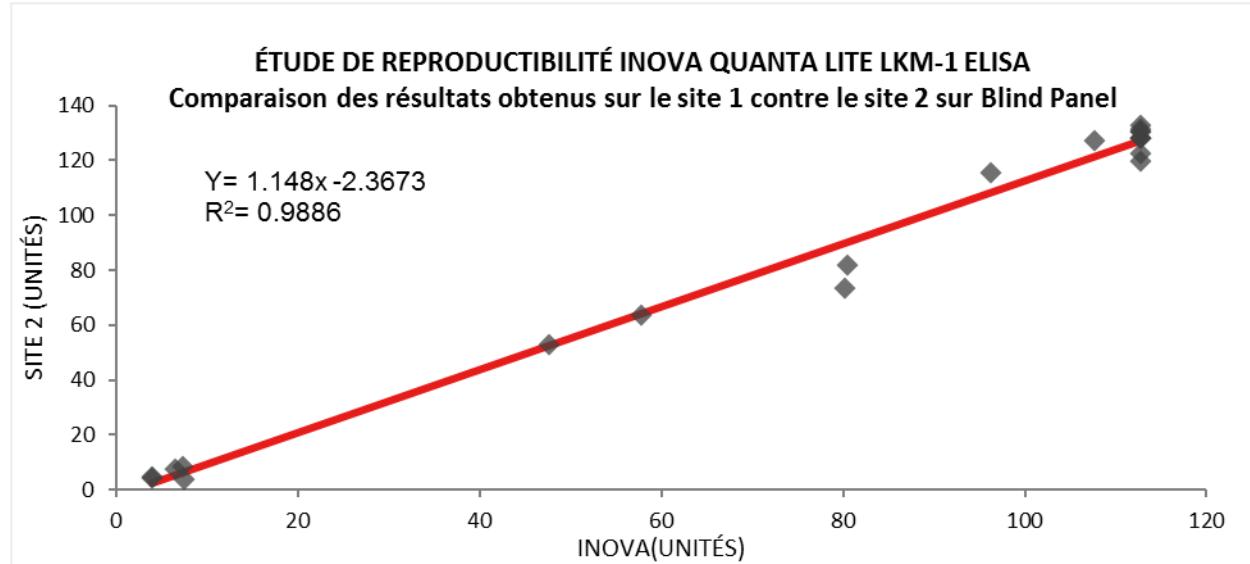
La performance inter-analyse fut évaluée en effectuant des tests sur 10 spécimens dont un négatif, un positif faible, un positif moyen et un positif fort, six fois chacun, sur une période de trois jours. Deux tests chaque jour, un le matin, l'autre dans l'après-midi. Les résultats, résumés dans le Tableau 4 montrent un pourcentage de VC d'environ 5 % ou moins pour tous les spécimens avec des valeurs de test de 5,5 ou plus.

Tableau 4 : performance inter-analyse pour QUANTA Lite LKM-1 ELISA

	Sérums 1	Sérums 2	Sérums 3	Sérums 4	Sérums 5	Sérums 6	Sérums 7	Sérums 8	Sérums 9	Sérums 10
Moyenne	58,0	3,2	65,8	5,1	50,2	46,9	4,4	48,5	44,2	5,4
Ecart type.	1,4	0,7	2,7	0,7	1,2	2,4	0,8	2,2	2,2	0,8
% VC	2,3	22,7	4,1	14,1	2,5	5,1	17,6	4,5	4,9	14,2

La reproductibilité inter-laboratoire fut évaluée en comparant les résultats obtenus sur le panel de 20 membres en aveugle sur un site clinique externe 2 aux résultats obtenus auparavant chez Inova Diagnostics. Une analyse de régression a indiqué un excellent accord avec une valeur  $R^2$  de 0,99 (Figure 2).

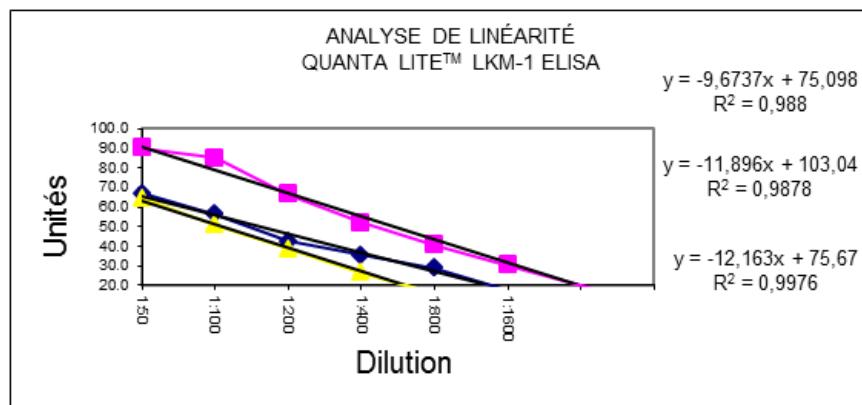
Figure 2



## Linéarité

Les dilutions de 3 spécimens ont démontré que l'analyse donne une bonne linéarité quand les tests sont effectués à des dilutions entre 1:50 et 1:51200 (Figure 3).

Figure 3



QUANTA Lite, Inova et Inova Diagnostics sont des marques d'Inova Diagnostics, Inc. © 2018 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.

## Referencias

1. McFarlane IG. The Relationship between autoimmune markers and different clinical syndromes in autoimmune hepatitis. *Gut* 42: 599-602, 1998.
2. Manns MP. Liver/kidney microsomal autoantigens. In: Autoantibodies, eds: Peter JB and Shoenfeld Y. Elsevier. pp 462-466, 1996.
3. Manns MP and Obermayer-Straub P. Cytochromes P450 and uridine triphosphate-glucuronosyltransferases: model autoantigens to study drug-induced, virus-induced, and autoimmune liver disease. *Hepatology* 26(4):1054-1066, 1997.
4. Zanger UM, Hauri HP, Loeper J, Homberg JC and Meyer UA. Antibodies against human cytochrome P450 dbl in autoimmune hepatitis type II. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85:8256-8260, 1988.
5. Manns MP, Johnson EF, Griffin KJ, Tan EM and Sullivan KF. Major antigen of liver kidney microsomal auto-antibodies in idiopathic autoimmune hepatitis is cytochrome P450 dbl. *J. Clin. Invest.* 83:1066-1072, 1989.
6. Gueguen M, Yamamoto AM, Bernhard O and Alvarez F. Anti-liver-kidney microsome antibody type 1 recognizes human cytochrome P450 dbl. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 159:542-547, 1989.
7. Miyakawa H, Kitazawa E, Abe K, Kawaguchi N, Fuzikawa H, Kikuchi K, Kako M, Komatsu T, Hayashi N and Kiyosawa K. Chronic hepatitis C associated with anti-liver/kidney microsome-1 antibody is not a subgroup of autoimmune hepatitis. *J. Gastroenterol.* 32(6): 769-776, 1997.
8. Clifford BD, Donahue D, Smith S, Cable E, Luettig B and Manns MP. High prevalence of serological markers of autoimmunity in patient with chronic hepatitis C. *Hepatology* 23:613-619, 1995.
9. Gregorio GV, Pensati P, Iorio R, Vengente A, Mieli-Vergani G and Vergani D. Autoantibody prevalence in children with liver disease due to chronic hepatitis C virus (HCV) infection. *Clin. Exp. Immunol.* 112(3): 471-6, 1998.
10. Declos-Valee JC, Hajoui O, Yamamoto AM, Jacqz-Aigrin E and Alvarez F. Conformational epitopes on CYP2D6 are recognized by liver/kidney microsomal antibodies. *Gastroenterology* 108: 470-467, 1995.
11. Dalekos GN, Wedemeyer H, Obermayer-Straub P, Kayser A, Barut A, Frank H and Manns MP. Epitope mapping of cytochrome P450 2D6 autoantigen in patients with chronic hepatitis C during alpha-interferon treatment. *J. Hepatol.* 30(3):366-375, 1999.
12. Todros L, Saracco G, Durazzo M, Abate ML, Touscoz G, Scaglione L, Verme G and M Tissetto. Efficacy and safety of interferon alfa therapy in chronic hepatitis C with autoantibodies to liver-kidney microsomes. *Hepatology* 22:1374-1378, 1995.
13. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Center for Disease Control/National Institute of Health, 2007, Fifth Edition.
14. Beaune P, Pessaire D, Dansette P, Mansuy D and Manns MP. Autoantibodies against cytochromes P450: a role in human diseases. *Adv. Pharmacol.* 30:199-245, 1994.
15. Homberg JC, Abuaf N, Bernard O, Islam S, Alvarez F, Khalil SH, Poupon R, Darnis F, Levy VG, Gripon P, et al. Chronic active hepatitis associated with antiliver/kidney microsome antibody type 1: a second type of "autoimmune hepatitis." *Hepatology* 7(6): 1333-9, 1987.

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](mailto: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](http://www.mt-procons.com)

628745FR

Octobre 2018  
Révision 13

