

QUANTA Lite® sp100 ELISA

Uniquement pour "Diagnostics In-Vitro"

Complexité de CLIA: Haut



A Werfen Company

REF

708990

Rx Only

Application

Le kit QUANTA Lite sp100 est un dosage immunoenzymatique (ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay) pour la détection semi-quantitative d'anticorps anti-sp100 de la classe IgG dans le sérum humain. Ce test a pour but de contribuer au diagnostic de la Cirrhose Biliaire Primitive (CBP).

Informations concernant le test

La Cirrhose Biliaire Primitive (CBP) est une maladie chronique du foie caractérisée par la destruction des petits canaux biliaires intra-hépatiques. La destruction progressive de ces canaux se traduit par une fonction du foie de plus en plus compromise et, avec le temps, elle peut conduire à une insuffisance hépatique et nécessiter une transplantation du foie.^{1,2} L'étiologie de la CBP est inconnue, bien qu'une composante génétique ainsi que d'autres facteurs puissent avoir une importance dans le développement de la maladie.^{1,3,4}

La CBP affecte plus fréquemment les femmes que les hommes. Le rapport femme: homme est de 9:1 et elle survient généralement entre 30 et 65 ans.^{3,4} La prévalence de la CBP parmi les parents du 1^{er} degré varie entre 1,3 et 6,4%.^{3,5} La CBP survient dans toutes les races et sa distribution est mondiale. En ce qui concerne la distribution géographique, on observe de grandes variations de la prévalence depuis une prévalence basse de 2/100.000 au Japon et en Australie jusqu'à 40 /100.000 aux États-Unis.^{4,6} Il reste à démontrer cependant, dans quelles mesures les grandes variations de la prévalence observées entre les différentes régions géographiques résultent de différences géographiques réelles ou si elles proviennent du profil de l'étude ou des méthodes appliquées.^{3,4,7}

Les dosages sérologiques sont des auxiliaires importants pour l'identification et le diagnostic de la CBP car de nombreux anticorps associés à la CBP sont présents avant que les symptômes ne soient devenus évidents.⁸ Au cours du temps, la proportion de patients restant asymptomatiques diminue⁸. Les anticorps anti-mitochondriaux (AMA) habituellement rencontrés sur les lames de tissu rénal et stomacal ou par immunofluorescence indirecte sur cellules HEp-2 (IFI) sont les marqueurs sérologiques classiques des patients atteints de CBP. Des études antérieures ont subdivisé les anticorps anti-mitochondries (AMA) en sous-groupes, en fonction de leur réactivité avec les fractions antigéniques (M1-M9) isolées à partir des membranes mitochondrielles de foie de rat ou de cœur de boeuf.⁹ La réactivité anti-M2 est la principale caractéristique spécifique, présente chez 95 % des patients CBP. Les tests ELISA pour la détection de M2 sont plus sensibles que la détection par immunofluorescence des anticorps anti-mitochondries (AMA).^{10,11}

Malgré la disponibilité de tests ELISA plus sensibles, la détection des AMA par IFI est toujours largement pratiquée dans de nombreux laboratoires. Un sous-groupe d'au moins 10 % des patients CBP présente des résultats AMA négatifs. Ce groupe de patients est appelé le groupe CBP AMA-négatif ou cholangite auto-immune. On ne sait cependant pas encore si ce groupe doit être considéré comme une entité clinique distincte de patients CBP AMA-positifs ou non.^{12,13}

Outre les anticorps anti-mitochondrie (AMA), environ 50 à 72 % des sérum des patients CBP contiennent des anticorps antinucléaires (ANA).¹⁴⁻¹⁶ Deux types de colorations ANA sont spécifiquement associés à la CBP : la coloration pointillée de la périphérie/membrane nucléaire, caractéristique de la protéine gp210 des pores de la membrane nucléaire et la coloration à taches multiples nucléaires, (MND), caractéristique de la protéine sp100 associée au noyau.^{12,14} Les anticorps anti-sp100 ont été détectés dans presque 25% des patients atteints de CBP et sont très spécifiques de cette maladie. Ces anticorps anti-sp100 sont également présents chez certains patients testés négatifs pour les marqueurs classiques de CBP tels AMA et M2.^{15,20,21} La présence des anticorps anti-sp100 est un élément qui peut aider à renforcer le diagnostic de la CBP lorsque l'examen clinique et/ou le profil sérologique n'est pas clair.²²

Les anticorps anti-sp100 produisent généralement un aspect moucheté d'environ 10 à 20 points nucléaires sur les cellules HEp-2. L'aspect moucheté associé au sp100 peut être difficile, voire impossible à lire à cause de la coloration concomitante AMA, ANA ou tout autre coloration tachetée. La cible des anticorps anti-sp100 a été identifiée. Il s'agit d'une protéine d'un poids moléculaire d'environ 100 kda, située au même endroit que la protéine PML (protéine de la leucémie promyélocytique), dans des complexes multiprotéiques appelés les corps nucléaires.^{14, 23} Des études supplémentaires ont permis le clonage moléculaire de la protéine sp100 et la mise au point d'essais ELISA pour la détection des anticorps anti-sp100.¹⁹

Principe du test

Un fragment purifié de la protéine sp100 est fixé sur les parois des puits d'une microplaquette de polystyrène. Ces antigènes sont fixés à la surface des puits de la plaque de microtitration. Les contrôles pré-dilués et les sérum patients dilués sont ajoutés dans différents puits. Une étape d'incubation permet la liaison entre les anticorps anti-sp100 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 peptide sp100 purifié 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-sp100, dans du tampon avec du stabilisateur
3. sp100 ELISA Low Positive, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps humains anti-sp100, dans du tampon avec du stabilisateur
4. sp100 ELISA High Positive, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps humains anti-sp100, 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 sérum humains de contrôle doivent être manipulés avec les mêmes précautions que celles utilisées pour un matériel potentiellement infectieux.²⁴
3. L'azide de sodium (NaN_3) est utilisé comme conservateur. NaN_3 est un poison et il est毒ique 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 dessicant 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 dessicant, 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 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 sp100 ELISA Plate (12-1 x 8 puits), avec support
- 1 1,2 ml ELISA Negative Control, pré-dilué
- 1 1,2 ml sp100 ELISA Low Positive, pré-dilué
- 1 1,2 ml sp100 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 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 et bien les mélanger avant de les utiliser.
2. Diluer la totalité de la solution de lavage (25ml) avec 975 ml d'eau distillée (1/40). La solution de tampon diluée reste stable une semaine à 2-8°C. Si la totalité de la plaque de microtitration n'est pas utilisée en une seule fois, un plus petit volume de tampon sera suffisant, par exemple pour traiter 16 puits, diluer 2ml de tampon concentré dans 78ml d'eau distillée.

3. Préparer les sérum des patients en les diluant au 1/101 dans le diluant d'échantillon (5µl dans 500µl). Les sérum doivent être utilisés dans les 8 heures qui suivent leur dilution. **Ne pas diluer** les contrôles ELISA fortement positif, faiblement positif en sp100 et négatif.
4. La détermination de la présence ou de l'absence de la sp100 en unités arbitraires nécessitent deux puits pour chacun des trois contrôles et un ou deux puits pour chacun des sérum 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 sp100 et négatif pré-dilués et de sérum des dilués patients dans les puits. Recouvrir les barrettes et laisser incuber pendant 30 minutes à température ambiante. Le temps d'incubation commence après l'ajout du dernier échantillon.
3. Lavage: aspirer le contenu de tous les puits. Ajouter 200-300µl de tampon dilué dans tous les puits et l'aspirer ensuite complètement. Répéter cette opération deux fois supplémentaires pour un total de trois lavages. Après le dernier lavage, retourner la plaque en la tapotant sur du papier absorbant, pour enlever tout liquide de lavage résiduel. Pour l'aspiration, maintenir la même séquence que celle utilisée lors de la distribution des échantillons.
4. Distribuer 100 µl de conjugué HRP 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 sp100, faiblement positif en sp100 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 sp100, ELISA faiblement positifs sp100 et négatifs sont prédilués, il n'est pas possible de valider le procédé de dilution des échantillons.
3. Des contrôles de qualité supplémentaires peuvent être réalisés selon les directives nationales, les réglementations internationales ou celles des organismes d'accréditation. Des contrôles appropriés peuvent être obtenus en aliquotant un pool de sérum humain conservé à une température inférieure ou égale à -20°C.
4. Pour valider les résultats obtenus, tous les critères décrits ci-dessous devront être vérifiés. Si un ou plusieurs de ces critères ne sont pas réalisés, le test devra être considéré comme non valide et à refaire.
 - a. La densité optique du Contrôle ELISA fortement positif en sp100 pré-dilué doit être supérieure à celle du contrôle ELISA faiblement positif en sp100 pré-dilué. D'autre part, la densité optique du contrôle ELISA faiblement positif en sp100 doit être supérieure à celle du contrôle ELISA négatif pré-dilué.
 - b. La densité optique du contrôle ELISA fortement positif en sp100 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 sp100 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 sp100 permettent de contrôler le bon fonctionnement des tests. Le Contrôle ELISA fortement positif en sp100 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.²⁵

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 sp100.

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

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 sont jugés négatifs (négatifs pour les anticorps IgG dirigés contre la sp100), douteux ou positifs (anticorps IgG dirigés contre la sp100 détectés) selon le tableau ci-dessous :

Négatif	0,0 - 20,0	unités
Douteux	20,1 - 24,9	unités
Positif	≥ 25	unités

1. Un résultat positif indique la présence d'anticorps IgG dirigés contre la sp100 et suggère une possibilité de Cirrhose Biliaire Primitive.
 2. Un échantillon avec des taux d'IgG anti-sp100 douteux ne peut pas être évalué pour déterminer un bilan des anticorps. Si les résultats restent douteux après que le test ait été répété, le résultat doit être rapporté comme douteux et/ou un échantillon supplémentaire doit être prélevé.
 3. Un résultat négatif indique l'absence d'anticorps IgG dirigés contre la sp100 ou des taux inférieurs à la limite de détection du dosage.
 4. Des échantillons donnant des valeurs de DO supérieures à la plage de lecture du lecteur de microplaques peuvent être rapportés comme étant supérieurs à la DO la plus élevée mesurable divisée par la DO positive faible multipliée par 25, ou bien ils peuvent être dilués, retestés et une valeur calculée 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 sp100. Les valeurs d'anti-sp100 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 négatif en sp100 n'exclut pas la présence d'une Cirrhose Biliaire Primitive.
 2. Un résultat négatif en anticorps anti-sp100 n'exclut pas la présence d'anticorps anti-sp100 car la concentration des anticorps peut être inférieure à la limite de détection du dosage.
 3. Un résultat de test positif indique uniquement la présence d'anticorps dirigés contre la sp100 et n'indique pas nécessairement la présence de la Cirrhose Biliaire Primitive.
 4. Le diagnostic de la Cirrhose Biliaire Primitive nécessite la prise en compte cumulée de l'historique du patient, du tableau clinique et d'autres tests diagnostiques.
 5. Les performances de cet essai dans la population pédiatrique n'ont pas été établies.
 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 sérums n'ont pas été établies.

Performances

La prévalence de la CBP parmi les parents du 1^{er} degré varie entre 1,3 et 6,4%.^{3,5} La CBP survient dans toutes les races et sa distribution est mondiale. En ce qui concerne la distribution géographique, on observe de grandes variations de la prévalence depuis une prévalence basse de 2/100.000 au Japon et en Australie jusqu'à 40 /100.000 aux États-Unis.^{4,6}

Valeur normale

Un groupe de 272 individus asymptomatiques et en bonne santé résidant aux États-Unis a été testé pour la détection des anticorps sp100 avec l'essai ELISA QUANTA Lite sp100. Le groupe était formé de 105 individus de sexe masculin et 87 de sexe féminin dont l'âge variait de 18 à 78 ans. La valeur moyenne et la médiane pour cette population furent 5,8 unités et 4,8 unités respectivement. La spécificité de cet essai fut de 99,3 % (270/272). Un des deux participants interprétés comme positifs, fut faiblement positif (28,5 unités) et l'autre fortement positif (134 unités). L'immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellules HEp-2 a révélé une fluorescence typique pointillée nucléaire pour l'échantillon fortement réactif tandis que la fluorescence de l'échantillon faiblement positif avait un aspect indéfini.

Performances spécifiques

Le Tableau 1 présente la fréquence des anticorps anti-sp100 détectés par le test ELISA QUANTA Lite sp100 sur un total de 273 échantillons CBP et maladies "superposant" la CBP. Dans cette analyse, nous avons rassemblé les résultats obtenus avec QUANTA Lite sp100 ELISA sur 3 cohortes cliniques.

La sensibilité globale de l'essai fut de 24,5 % (67/273). La spécificité fut de 99,5 % (381/383). La valeur prédictive positive fut de 97,1 % et la valeur prédictive négative de 64,9%.

Les valeurs de la moyenne et de la médiane pour tous les participants non-CBP ou CBP/Hépatite auto-immune (HAI) furent de 5,14 et 4,55 unités respectivement.

Tableau 1: Performance de l'essai QUANTA Lite sp100 ELISA sur des données combinées – toutes les cohortes.

ELISA	N=	sp100		
		positive	eq	négative
CBP	266	65	7	194
CBP/HAI	2	0	0	2
CBP ?, CBP/HAI ?, HAI ?/CBP	5	2	0	3
VHB, VHC	6	0	0	6
LES	36	0	2	34
HAI-1, HAI/CSP ?, HAI-2	43	0	0	43
Arthrite rhumatoïde	3	0	0	3
Cholangite sclérosante primaire (CSP), CSP ?	3	0	0	3
Divers : Sm(1), SS-B(1), Histone(3), Jo-1(1), Scl-70(1), riboP(1), GBM(2), RNP(1), Chromatine(2), Centromère (1), ASCA(2)	16	0	0	16
Diagnostic incertain	4	0	0	4
Normal	272	2	0	270
Total	656	69	9	578

Sensibilité CBP& CBP/HAI = 24,5% (67/273) (95 Intervalle de confiance [(CI)] = 19,6-30,1%)

Spécificité – Tous non-CBP = 99,5% (381/383) (95% CI = 98,1-99,9%)

Valeur prédictive positive = 97,1%

Valeur prédictive négative = 64,9%

Moyenne - tous non-CBP = 5,12 unités

Médiane - tous non-CBP = 4,55 unités

Les sérum de 111 patients atteints de maladie hépatique non-CBP, auto-immune et d'autres conditions, ont été testés par le QUANTA Lite sp100 ELISA afin d'évaluer la spécificité de l'essai. Aucun échantillon non-CBP ou non-CBP/HAI n'a été interprété comme positif par le test QUANTA Lite sp100 ELISA, comme le montre le Tableau 2. La spécificité globale de l'essai QUANTA Lite sp100, incluant des témoins sains et des sérum non-CBP fut donc de 99,5% (381/383).

Tableau 2: Étude de la réactivité croisée du test QUANTA Lite sp100 ELISA

	N=	sp100 ELISA Positive	% Positive
Virus de l'Hépatite B	2	0	0
Virus de l'Hépatite C	4	0	0
Lupus érythémateux systémique (LES)	36	0	0
Hépatite auto-immune (HAI)	43	0	0
Arthrite rhumatoïde	3	0	0
Cholangite sclérosante primaire (CSP) ou CSP ?	3	0	0
Échantillons divers positifs pour : Sm(1), RNP(10), SS-B(1), Scl-70, Jo-1(1), Ribosome P(1), Chromatine(1), Centromère (1), ASCA(1), GBM(2), Sclérodermie	16	0	0
Diagnostic incertain	4	0	0
Total	111	0	0

Précision et Reproductibilité

Les performances intra-essai ont été évaluées en testant 9 échantillons au total 6 fois chacun.

Tableau 3 : Performances intra-essai du test QUANTA Lite sp100 ELISA

	A	B	C	D	E	F	G	H	I
Unités de la moyenne	140,2	3,7	164,2	4,3	188,3	21,5	27,2	24,8	21,0
Écart type	0,6	0,5	2,5	0,6	0,9	0,5	0,6	1,4	0,7
Coéfficient de variation %	0,4	12,2	1,5	13,0	0,5	2,5	2,1	5,6	3,5

Les performances inter-essais ont été évaluées en testant en double 5 échantillons deux fois par jour (une fois le matin et une fois l'après-midi) pendant 3 jours.

Tableau 4 : Performances inter-essais du test QUANTA Lite sp100 ELISA

	HPC	1	2	3	4	5
Unités de la moyenne	139,5	141,4	4,3	172,2	4,7	197,9
Écart type	6,1	6,7	0,1	8,1	0,2	8,5
Coéfficient de variation %	4,4	4,8	3,3	4,7	3,7	4,3

QUANTA Lite, Inova e Inova Diagnostics são marcas comerciais da Inova Diagnostics, Inc. © 2018 Inova Diagnostics, Inc. Todos os direitos reservados.

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.

Références

1. Kaplan, M. M. Primary biliary cirrhosis. *N Engl J Med* 335, 1570-80 (1996).
2. Heathcote, E. J. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Diseases practice guidelines. *Hepatology* 31, 1005-13 (2000).
3. Talwalkar, J. A. & Lindor, K. D. Primary biliary cirrhosis. *Lancet* 362, 53-61 (2003).
4. Feld, J. J. & Heathcote, E. J. Epidemiology of autoimmune liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 18, 1118-28 (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, 402-7 (1999).
6. Kim, W. R. et al. Epidemiology and natural history of primary biliary cirrhosis in a US community. *Gastroenterology* 119, 1631-36 (2000).
7. Prince, M. I. & James, O. F. The epidemiology of primary biliary cirrhosis. *Clin Liver Dis* 7, 795-819 (2003).
8. 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, 1044-51 (2002).
9. Berg, P. A. & Klein, R. Mitochondrial antigens and autoantibodies: from anti-M1 to anti-M9. *Klin Wochenschr* 64, 897-909 (1986).
10. Vergani, D. & Bogdanos, D. P. Positive markers in AMA-negative PBC. *Am J Gastroenterol* 98, 241-43 (2003).
11. Miyakawa, H. et al. Detection of antimitochondrial autoantibodies in immunofluorescent AMA-negative patients with primary biliary cirrhosis using recombinant autoantigens. *Hepatology* 34, 243-48 (2001).
12. Fritzler, M. J. & Manns, M. P. Anti-mitochondrial autoantibodies. *Clin Appl Immunol Rev* 3, 87-113 (2002).
13. Neuberger, J. & Thomson, R. PBC and AMA--what is the connection? *Hepatology* 29, 271-76 (1999).
14. Worman, H. J. & Courvalin, J. C. Antinuclear antibodies specific for primary biliary cirrhosis. *Autoimmun Rev* 2, 211-17 (2003).
15. Muratori, P. et al. Characterization and clinical impact of antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 98, 431-37 (2003).
16. Yang, W. H. et al. Do antinuclear antibodies in primary biliary cirrhosis patients identify increased risk for liver failure? *Clin Gastroenterol Hepatol* 2, 1116-22 (2004).
17. Szostecki, C., Guldner, H. H., Netter, H. J. & Will, H. Isolation and characterization of cDNA encoding a human nuclear antigen predominantly recognized by autoantibodies from patients with primary biliary cirrhosis. *J Immunol* 145, 4338-47 (1990).
18. Evans, J., Reuben, A. & Craft, J. PBC 95k, a 95-kilodalton nuclear autoantigen in primary biliary cirrhosis. *Arthritis Rheum* 34, 731-36 (1991).
19. Zuchner, D. et al. Prevalence, kinetics, and therapeutic modulation of autoantibodies against sp100 and promyelocytic leukemia protein in a large cohort of patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 26, 1123-30 (1997).
20. Norman, G. L. et al. Detection of Autoantibodies to sp100 in Primary Biliary Cirrhosis Patients by a new ELISA. *Assn Med Lab Immunol Ann. Meeting* (2004).
21. Romero-Gomez, M. et al. Serum immunological profile in patients with chronic autoimmune cholestasis. *Am J Gastroenterol* 99, 2150-57 (2004).
22. Czaja, A. J. & Norman, G. L. Autoantibodies in the diagnosis and management of liver disease. *J Clin Gastroenterol* 37, 315-29 (2003).
23. Szostecki, C., Krippner, H., Penner, E. & Bautz, F. A. Autoimmune sera recognize a 100 kD nuclear protein antigen (sp-100). *Clin Exp Immunol* 68, 108-16 (1987).
24. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control/National Institute of Health, 1999, Fourth Edition, (HHS Pub. # (CDC) 93-8395).
25. Internal Quality Control: Principles and Definitions, Approved Guidline, NCCLS Doc C24-A (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

628990FR

Décembre 2018
Révision 3

