

1. INDICATIONS D'UTILISATION

La trousse BlueDiver Quantrix ANA¹⁹ IgG contient 24 tests Immunodot permettant la détection, dans le sérum humain, des auto-anticorps IgG dirigés contre les antigènes suivants: Nucleosomes, dsDNA, Histones, Sm, RNP 68kD/A/C, Sm/RNP, SSA/Ro 60kD, SSA/Ro 52kD, SSB, Scl-70, RNA Polymerase III, Ku, PM-Scl 100, Mi-2, Jo-1, CENP-A/B, PCNA, Ribosome P0 et DFS-70.

Cette trousse est prévue pour confirmer les résultats obtenus par immunofluorescence, méthode de screening et de référence en auto-immunité, dans le cadre d'une aide au diagnostic de certaines maladies auto-immunes (pour plus de détails concernant le lien avec chaque auto-anticorps, voir 11.5 Valeurs diagnostiques des auto-anticorps).

Le test est destiné à la confirmation des patients positifs en IFA et des patients négatifs en IFA présentant une forte suspicion de trouble auto-immun.

La trousse est strictement réservée à un usage professionnel dans les laboratoires d'analyses cliniques. Une formation préalable est fortement recommandée (veuillez contacter votre distributeur).

Elle est strictement prévue comme un test automatisé et ne peut être utilisé que dans un instrument BlueDiver Modèle I ou II (ci-après dénommés BDI I ou BDI II respectivement).

La détection des différents auto-anticorps IgG est semi-quantitative (voir point 10.2)

Pour cette semi-quantification des résultats du test, il est nécessaire d'utiliser le système BlueScan/logiciel Dr Dot. Ce système n'est pas inclus dans le BDI I, mais est inclus dans le BDI II (voir point 4).

2. PRINCIPE DU TEST

Cette trousse et tous ses composants sont destinés à être utilisés exclusivement avec le BDI I ou II.

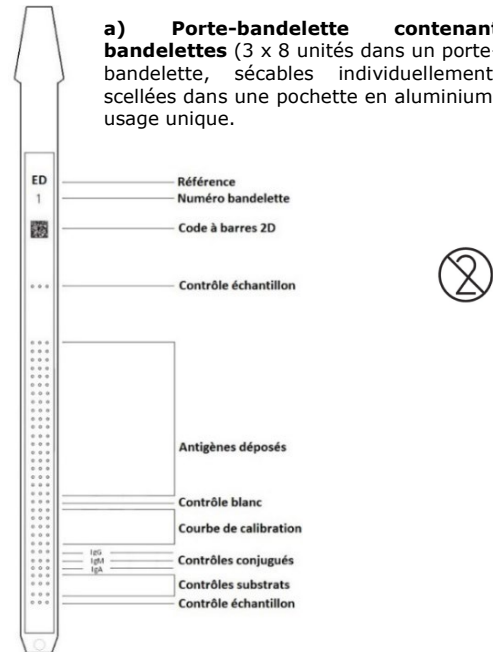
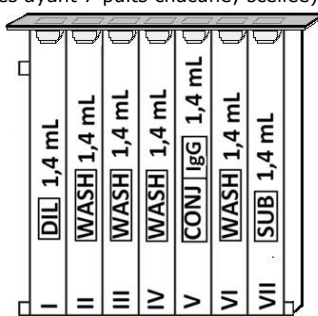
Le test est basé sur une méthode immuno-enzymatique. Les bandelettes sont composées d'une membrane fixée sur un support plastique spécifique. Durant l'automatisation du test, le BlueDiver Instrument incube les bandelettes successivement dans les puits des cartouches contenant les réactifs prêts à l'emploi. En résumé : les bandelettes sont d'abord incubées avec le sérum dilué du patient. Les anticorps, s'ils sont présents dans l'échantillon, se lient à l'antigène/aux antigènes spécifique(s) sur la membrane. La fraction non liée est éliminée par lavage dans l'étape suivante. Ensuite les bandelettes sont incubées avec les immunoglobulines anti-IgG humaines conjuguées à de la phosphatase alcaline. Le conjugué se lie aux complexes antigènes-anticorps à la surface de la membrane. Après une étape de lavage permettant d'éliminer l'excès de conjugué, les bandelettes sont incubées dans une solution de chromogène/substrat ; celle-ci provoque l'apparition d'un produit insoluble coloré (violet) qui précipite sur le site de la réaction enzymatique. L'intensité de la coloration est directement proportionnelle à la quantité d'anticorps présents dans l'échantillon. Tous les résultats obtenus sont semi-quantitatifs grâce à une courbe de calibration en 6 points (blanc compris) et intégrée sur chaque bandelette. Différents contrôles (échantillon, conjugué et substrat) ont également été intégrés sur chaque bandelette. Leur présence permet de valider toutes les étapes du test (depuis l'ajout de l'échantillon jusqu'au contrôle de la cinétique du substrat en passant par le contrôle de la spécificité et de la réactivité du conjugué). Pour plus de précision, tous les dots ont été déposés en triplet, sous forme de microdots. Cela permet de calculer pour chaque paramètre (antigène, courbe de calibration et contrôles) une valeur moyenne et un écart-type. La trousse est composée de 24 tests à usage unique.

3. CONTENU DE LA TROUSSE

Avant toute utilisation du kit, veuillez vérifier que tous les éléments listés sont présents. Veuillez également vérifier si les caractéristiques du produit correspondent à celles décrites ci-après.

Si l'un des éléments est manquant ou endommagé ou non-conforme, veuillez ne pas utiliser la trousse et contacter votre distributeur.

3.1 Composants















<p>a) Porte-bandelette contenant bandelettes (3 x 8 unités dans un porte-bandelette, sécables individuellement, scellées dans une pochette en aluminium, usage unique.</p> 	<p>b) Cartouche (24 unités ayant 7 puits chacune; scellée) ; usage unique</p>  <table border="1"> <tr> <td>Diluent pour échantillon</td><td>I^{ère} position, 1 x 1,4 ml (jaune), contenant: H₂O • TBS • BSA • NaCl • Tween • conservateur • colorant • émulsion anti-mousse</td></tr> <tr> <td>Tampon de lavage</td><td>II^{ème}, III^{ème}, IV^{ème} et VI^{ème} position, 4 x 1,4 ml (incolore), contenant: H₂O • TBS • NaCl • Tween • conservateur • émulsion anti-mousse</td></tr> <tr> <td>Conjugué</td><td>V^{ème} position, 1 x 1,4 ml (rouge), contenant: H₂O • TBS • NaCl • KCl • MgCl₂ • immuno-globulines de chèvre anti-IgG humaines/AP • conservateur • colorant • émulsion anti-mousse</td></tr> <tr> <td>Substrat</td><td>VII^{ème} position, 1 x 1,4 ml (solution jaune pâle), contenant: H₂O • conservateur • MgCl₂ • TBS • stabilisateur NBT • NBT • BCIP</td></tr> </table> <p>c) Documents: Manuel d'utilisation (IFU), Certificat d'Analyse (CoA)</p>	Diluent pour échantillon	I ^{ère} position, 1 x 1,4 ml (jaune), contenant: H ₂ O • TBS • BSA • NaCl • Tween • conservateur • colorant • émulsion anti-mousse	Tampon de lavage	II ^{ème} , III ^{ème} , IV ^{ème} et VI ^{ème} position, 4 x 1,4 ml (incolore), contenant: H ₂ O • TBS • NaCl • Tween • conservateur • émulsion anti-mousse	Conjugué	V ^{ème} position, 1 x 1,4 ml (rouge), contenant: H ₂ O • TBS • NaCl • KCl • MgCl ₂ • immuno-globulines de chèvre anti-IgG humaines/AP • conservateur • colorant • émulsion anti-mousse	Substrat	VII ^{ème} position, 1 x 1,4 ml (solution jaune pâle), contenant: H ₂ O • conservateur • MgCl ₂ • TBS • stabilisateur NBT • NBT • BCIP
Diluent pour échantillon	I ^{ère} position, 1 x 1,4 ml (jaune), contenant: H ₂ O • TBS • BSA • NaCl • Tween • conservateur • colorant • émulsion anti-mousse								
Tampon de lavage	II ^{ème} , III ^{ème} , IV ^{ème} et VI ^{ème} position, 4 x 1,4 ml (incolore), contenant: H ₂ O • TBS • NaCl • Tween • conservateur • émulsion anti-mousse								
Conjugué	V ^{ème} position, 1 x 1,4 ml (rouge), contenant: H ₂ O • TBS • NaCl • KCl • MgCl ₂ • immuno-globulines de chèvre anti-IgG humaines/AP • conservateur • colorant • émulsion anti-mousse								
Substrat	VII ^{ème} position, 1 x 1,4 ml (solution jaune pâle), contenant: H ₂ O • conservateur • MgCl ₂ • TBS • stabilisateur NBT • NBT • BCIP								

Abréviations en ordre alphabétique:

AP = Phosphatase alcaline; BCIP = Bromo-Chloro-Indolyl-Phosphate; BSA = Albumine de sérum bovin; KCl = Chlorure de potassium; MgCl₂ = Chlorure de magnésium; NaCl = Chlorure de sodium; NBT = NitroBlue Tetrazolium; TBS = Tampon Tris Salin.

Pour plus de détail sur la composition et la concentration des ingrédients actifs utilisés, se référer au MSDS disponible sur demande ou sur www.d-tek.be

Symboles utilisés sur les étiquettes des trousses

	Consulter les instructions d'utilisation		Marquage CE + organisme notifié
	Dispositif médical de diagnostic in vitro		Pour 24 utilisations
	Seuil de température entre 2°C et 8°C		N° de référence
	N° de lot		Conserver à l'abri de la lumière du soleil
	Date limite d'utilisation		Fabricant légal
	Cartouche		Ne pas réutiliser
	Bandelette		Mise en garde

3.2 Antigènes utilisés

Nucleosome	ADNdb enroulé autour d'un octamère d'histones. Mélange hétérogène de poly-nucléosomes natifs purs composés d'environ 7 à 28 mono-nucléosomes. Contient les histones H2a, H2b, H3-H4 et des traces de H1 (purifié à partir de la chromatine du thymus bovin)
dsDNA	DNA double brin (purifié à partir du thymus bovin)
Histones	Mélange de H1, H2a, H2b, H3-H4 (purifié à partir du thymus bovin)
Sm	Protéine de base de la particule snRNP; contient principalement la protéine D; les sous-unités E, F, G sont détectables; les protéines BB' ne sont pas détectables (purifié à partir de thymus bovin)
RNP 68kD/A/C	Mélange de protéines de 68 kD, A et C provenant de particules snRNP (recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
Sm/RNP	Particule snRNP; contient essentiellement les protéines 68kD, A, BB', C et D; une quantité significative de snRNA est détectable (purifié à partir de thymus bovin)
SSA/Ro 60kD	Protéine Ro60 kD (recombinant, humain, exprimée dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
SSA/Ro 52kD	E3-ubiquitine ligase (protéine à motif tripartite 21, TRIM21) (recombinant, humain, exprimée dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
SSB	Protéine La50 kD (recombinant, humain, exprimée dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
Scl-70	ADN topoisomérase I (recombinant, humain, exprimée dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
RNA Polymerase III	Sous-unité de 155 kD (RPC 155) du complexe ARN Polymérase III (recombinant, humain, exprimé dans E.coli)
Ku	Sous-unité régulatrice de la protéine kinase ADN-dépendante (hétérodimère 70/80 kD (recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
PM-Scl 100	Antigène de la polymyosite-sclérodémie (sous-unité 100 kD) (recombinant, humain, exprimée dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
Mi-2	Protéine CHD4 (protéine de liaison ADN hélicase chromodomaine), sous-unité Mi-2 bêta (recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
Jo-1	Histidyl-ARNt synthétase (recombinante, humaine, exprimée dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
CENP-A/B	Protéines A et/ou B du centromère (recombinant, humain, exprimée dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
PCNA	«Proliférating Cell Nuclear Antigen» (recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
Ribosome P0	Protéine ribosomale P0 (recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
DFS-70	Facteur de croissance de l'épithélium du cristallin (Dense Fine Speckles (marquage granulaire dense) de la protéine 70 kD (recombinant, humain, séquence complète, exprimé dans E.coli)

3.3 Ingrédients réactifs

Substance	Origine	But prévu dans les trousses ANA Screening	Concentration dans les trousses ANA Screening	Pureté
IgG anti-humain de chèvre conjuguée à la phosphatase alcaline (AP)	Animal (chèvre)	Anticorps secondaire (anticorps de détection) dans le tampon de conjugaison	< 0,1 µg/ml dans le tampon de conjugaison	Inconnue. Aucun anticorps détectable contre les composants sériques non-immunoglobuliniques
Nucleosome	purifié à partir de la chromatine du thymus bovin	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,1 mg/ml Un dot Nucleosome = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
dsDNA	purifié à partir du thymus bovin	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,5 mg/ml Un dot dsDNA = 25nl sur chaque bandelette	> 80%

Histones	purifié à partir du thymus bovin	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,025 mg/ml Un dot Histones = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
Sm	purifié à partir du thymus bovin	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,04 mg/ml Un dot Sm = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
RNP 68kD/A/C	recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,02 mg/ml Un dot RNP 68kD/A/C = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
Sm/RNP	purifié à partir du thymus bovin	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,02 mg/ml Un dot Sm/RNP = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
SSA/Ro 60kD	recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,04 mg/ml Un dot SSA/Ro 60kD = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
SSA/Ro 52kD	recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,0125 mg/ml Un dot SSA/Ro 52kD = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
SSB	recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,01 mg/ml Un dot SSB = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
Scl-70	recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,02 mg/ml Un dot Scl-70 = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
RNA-PIII	recombinant, humain, exprimé dans E.coli	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,02 mg/ml Un dot RNA-PIII = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
Ku	recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,025 mg/ml Un dot Ku = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
PM-Scl 100	recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,2 mg/ml Un dot PM-SCL 100 = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
Mi-2	recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,04 mg/ml Un dot Mi-2 = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
Jo-1	recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,02 mg/ml Un dot Jo-1 = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
CENP-A/B	recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	CENP-A : 0,033 mg/ml CENP-B : 0,025 mg/ml Un dot CENP-A/B = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
PCNA	recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,2 mg/ml Un dot PCNA = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
Ribosome P0	recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,025 mg/ml Un dot Ribosome P0 = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
DFS-70	recombinant, humain, séquence complète, exprimé dans E.coli	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	0,02 mg/ml Un dot DFS-70 = 25nl sur chaque bandelette	> 80%
Protéine L	Bactérien (Peptostreptococcus magnus)	Contrôle réactif (positif)	0,01 mg/ml Un dot RC = 25nl sur chaque bandelette	> 95%
Streptavidine - Phosphatase alcaline	Bactérien (Streptomyces avidinii)	Contrôle de seuil (négatif)	< 0,1 µg/ml Un dot CO = 25nl sur chaque bandelette	Inconnue
NBT-BCIP	Synthétique (substance chimique)	Substrat pour la phosphatase alcaline	0,2 mg/ml	≥ 98%

4. MATERIEL OBLIGATOIRE/NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

BDI I:



Scanner BlueScan et logiciel Dr Dot:



BDI II:



Le BDI I est un instrument qui réalise les différentes étapes d'incubation et de lavage des bandelettes immunodot de D-tek, du dépôt de l'échantillon au développement final de la couleur. La capacité maximale est de 24 bandelettes qui sont incubées simultanément. Chaque bandelette est associée à une cartouche contenant les différents réactifs permettant de réaliser le test. Le BDI I dispose d'un lecteur de code-barres qui contrôle la bonne association entre une bandelette et sa cartouche.

Une formation préalable est fortement recommandée (voir votre distributeur).

Veuillez consulter le manuel d'utilisation avant d'utiliser le BDI I.

Le scanner BlueScan et le logiciel Dr Dot sont destinés à la lecture des résultats de test des bandelettes immunodot D-tek. Le logiciel Dr Dot et le scanner BlueScan doivent être utilisés en combinaison.

Le scanner a été spécialement développé pour la lecture des bandelettes ayant le design "BlueDiver". Sur la base de l'image des bandelettes scannées, le logiciel Dr Dot convertit l'intensité de chaque point/ligne en une valeur numérique (l'échelle numérique est basée sur une échelle de gris). Les résultats sont exprimés en unités arbitraires (de 0 à 100). Il est possible de lire de 1 à 24 bandelettes.

Une formation préalable est fortement recommandée (voir votre distributeur).

Veuillez contacter votre distributeur pour obtenir la dernière version du logiciel Dr Dot.

Veuillez consulter le manuel d'utilisation avant d'utiliser le BlueScan et le logiciel Dr Dot.

Le BDI II est un instrument qui réalise les différentes étapes de pipetage des échantillons, d'incubation, de lavage, de séchage et de lecture des bandelettes immunodot de D-tek, depuis le dépôt du tube d'échantillon jusqu'à la lecture finale des bandelettes.

La capacité maximale du BDI II est de 24 bandelettes qui sont incubées simultanément. Chaque bandelette est associée à une cartouche contenant les différents réactifs permettant de réaliser le test. Le BDI II dispose d'un lecteur de code-barres qui contrôle la bonne association entre une bandelette et sa cartouche.

Il comprend le système de lecture BlueScan et Dr Dot.

Une formation préalable est obligatoire (voir votre distributeur).

Veuillez consulter le manuel d'utilisation avant d'utiliser le BDI II.

Autre matériel: Micropipettes, papier absorbant, équipement de protection

5. CONSERVATION

La trousse doit être conservée à une température comprise entre +2°C et +8°C pendant toute sa période de validité (voir la date d'expiration sur la trousse). Ne pas congeler.

Après l'ouverture initiale de la trousse, les cartouches de réactifs non utilisées doivent être conservées entre 2 et 8°C à l'abri de la lumière (solaire), de préférence dans la boîte d'origine de la trousse.

Les bandelettes non utilisées doivent être replacées dans les sachets fournis, scellés et conservés à 2-8°C de préférence dans la boîte d'origine de la trousse. Lorsqu'ils sont stockés correctement, tous les composants de la trousse sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée.

6. PRECAUTIONS DE SECURITE

1. Tous les réactifs sont destinés au diagnostic in vitro et à une utilisation professionnelle uniquement. La trousse ne peut être utilisée que par des techniciens formés.
2. Les réactifs de la trousse ne sont pas considérés comme dangereux car les concentrations en chimiques potentiellement dangereux sont inférieures aux seuils spécifiés par le règlement européen :

Nom	CAS	EINECS	Concentration dans le mélange	Classification (sous forme concentrée) conformément au Règlement EC 1272/2008 Signification - Mentions de danger (H)
MIT	55965-84-9	-	< 0,0015 %	Acute Tox. 2 - H330 Acute Tox. 2 - H310 Acute Tox. 3 - H301 Skin Corr. 1 C - H314; C ≥ 0,6% Eye Dam. 1 - H318; C ≥ 0,6% Skin Sens. 1 A - H317; C ≥ 0,0015% Aquatic Acute 1 - H400 Aquatic Chronic 1 - H410

Annexe au règlement (UE) 2018/1480 de la Commission; Numéro d'index: 613-167-00-5; Règlement (UE) 2015/830 de la Commission; 3.2.1

Nom	CAS	EINECS	Concentration dans le mélange	Classification (sous forme concentrée) conformément au Règlement EC 1272/2008 Signification - Mentions de danger (H)
NaN ₃	26628-22-8	247-852-1	< 0,1 %	Acute tox. 2 - H300 Acute tox. 1 - H310 STOT RE 2 - H373 Aquatic Acute 1 - H400 Aquatic Chronic 1 - H410

Annexe VI du Règlement (CE) N° 1272/2008 : N° Index : 011-004-00-7 ; Règlement (UE) 2015/830 de la Commission : 3.2.1

Nom	CAS	EINECS	Concentration dans le mélange	Classification (sous forme concentrée) conformément au Règlement EC 1272/2008 Signification - Mentions de danger (H)
NBT	298-83-9	206-067-4	< 0,01%	Acute tox. 4 - H302

Nom	CAS	EINECS	Concentration dans le mélange	Classification (sous forme concentrée) conformément au Règlement EC 1272/2008 Signification - Mentions de danger (H)
Nitrate cellulose	de 9004-70-0	-	< 5 %	Flam. Sol. 1 - H228

Annexe VI du Règlement (CE) N° 1272/2008 : N° Indexe : 603-037-00-6 ; Règlement (UE) 2015/830 de la Commission : 3.2.1

Néanmoins, ces substances chimiques sont toxiques sous forme concentrée. Par conséquent, tout contact avec la peau, les yeux ou les muqueuses doit être évité en utilisant une protection individuelle adaptée (gants, blouse de laboratoire, lunettes de protection). Comme pour tout produit chimique présentant des dangers spécifiques, le produit ou ses composants ne doivent être manipulés que par du personnel qualifié et en prenant les précautions nécessaires.

- D'autre part, les échantillons des patients doivent être manipulés comme s'ils étaient capables de transmettre des maladies infectieuses et nécessitent une protection adaptée (gants, tablier, lunettes). Dans tous les cas, les BPL doivent s'appliquer à l'utilisation de cette trousse avec toutes les règles de sécurité générales ou individuelles en vigueur.
- Déchets : les échantillons des patients, les bandelettes incubées et les cassettes utilisées doivent être considérés comme des déchets infectieux; les emballages ne nécessitent pas une collecte séparée à moins que les directives officielles le spécifient autrement.
- Le dispositif contient des substances d'origines animale, humaine et bactérienne (cf. 3.3) à des concentrations très faibles. Toutes ces substances ont été sélectionnées de manière à ne contenir aucun agent microbien ou transmissible, et sont non-toxiques à la concentration utilisée dans le dispositif. Néanmoins, une bonne pratique de laboratoire de la part de l'utilisateur (lunettes, gants) est nécessaire.

7. RECOMMANDATIONS

- D-tek s.a. et ses distributeurs autorisés ne peuvent pas être tenus responsables des dommages occasionnés indirectement ou consécutivement à un changement ou une modification dans le procédé d'utilisation indiqué, à une utilisation abusive de la trousse et/ou à l'utilisation d'une trousse incomplète ou endommagée. L'utilisation de cette trousse est réservée uniquement à un personnel technique qualifié.
- La responsabilité de D-tek s.a. se limite dans tous les cas au remplacement de la trousse.
- Dans le cas où un incident grave (blessure, dégradation de l'état de santé, ou décès) se produirait avec ce dispositif IVD, veuillez le signaler immédiatement au fabricant (voir adresse ci-dessous) ainsi qu'à l'autorité compétente de votre pays.

8. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, MANIPULATION ET CONSERVATION

Le test doit être utilisé uniquement sur des échantillons de sérum récemment prélevés ! Les sérums présentant des particules devraient être centrifugés à faible vitesse. Les échantillons de sang doivent être recueillis dans des tubes secs. Eviter d'utiliser un pool de sérums différents, car cela peut conduire à des résultats discordants (voir point 10.4). Après séparation, les échantillons de sérum doivent être utilisés immédiatement ou aliquotés et stockés à 2-8°C (pendant un maximum de 14 jours) ou congelés à -20°C (pour des périodes de stockage plus longues, maximum 13 mois). Les cycles répétés de congélation/décongélation des échantillons ne doivent pas dépasser 10 cycles.

9. PROCEDURE DE TEST

INFORMATIONS PRELIMINAIRES, MANIPULATION ET CONSEILS:

Principe de la procédure de test:

Après l'insertion manuelle des bandelettes et des cartouches de réactifs, le *BDI* réalise automatiquement les incubations et les étapes de lavage. Par son mouvement continu, l'automate *BDI* assure une circulation efficace des réactifs prêts à l'emploi sur la bandelette. Toute la procédure de test doit être effectuée à température ambiante (18-25°C).

Description des BANDELETTES

La face réactive (avant) des bandelettes contient les antigènes qui apparaissent sous forme de dots légèrement colorés en bleu. Cette coloration garantit que tous les antigènes ont été correctement adsorbés sur la membrane. Elle disparaît pendant la première étape de la procédure. La face avant affiche également un numéro de bandelette et un code à barres à deux dimensions permettant la traçabilité des bandelettes une fois sorties du *BDI* à la fin du test.

La face non-réactive (arrière) des bandelettes contient à la fois un code alphanumérique et un code à barres permettant l'identification par le *BDI* du type de bandelette et du numéro de lot du test.



Les bandelettes doivent être insérées manuellement dans le peigne prévu à cet effet avant de démarrer le test automatisé (cf. Préparation du test, pt 9.1 et 9.2). Durant cette opération, veiller à ne pas toucher directement avec les doigts les membranes de nitrocellulose. Veiller à porter des gants de laboratoire et à manipuler les bandelettes par leur support en plastique (porte-bandelettes).

Description des CARTOUCHES DE REACTIFS (cf. image page 1)

Les cartouches de réactifs sont composées de 7 puits différents remplis de réactifs prêts à l'emploi. Les cartouches sont scellées (et les réactifs hermétiquement séparés). Elles doivent être descellées avant de démarrer le test. Une fois ouverte, veiller à manipuler les cartouches avec précaution de manière à éviter la perte de réactifs ou une contamination entre les puits.

La face arrière des cartouches est étiquetée au moyen d'un code alphanumérique et d'un code à barres qui permet l'identification par le *BDI* du type de cartouche ainsi que du numéro de lot de celle-ci.

Les cartouches doivent être chargées manuellement dans le porte-cartouches prévu à cet effet avant de démarrer le test automatisé (cf. pt 9.1 et 9.2). La face avant présente à sa base une forme triangulaire, et la face arrière présente à sa base et au sommet une forme carrée. Ces formes sont utilisées pour sécuriser l'insertion des cartouches et comme détrompeur pour leur orientation dans le porte-cartouches.

Description des CONTRÔLES

Le **contrôle de l'échantillon ou contrôle de réaction (RC)** est constitué d'une protéine (protéine L) fixant toutes les immunoglobulines présentes dans l'échantillon testé. Si le test s'est déroulé correctement, ce contrôle se colore en fin de test avec un signal dépendant de la concentration effective d'immunoglobulines dans l'échantillon.

Une absence de signal en fin de test peut signifier un oubli de pipetage de l'échantillon sur la bandelette (cf. 10.4 Dépannage). Le logiciel Dr Dot donne l'information si le RC est faible (45%<RC<55%) ou absent (45% ou moins).

Le **contrôle blanc** est une mesure du fond général du test, et constitue le point de départ (0 U/ml) de la courbe de calibration du test.

La **courbe de calibration** est constituée de 6 points correspondant à une dilution en série d'une protéine (streptavidine – phosphatase alcaline), réagissant avec le substrat enzymatique et avec certains éléments constitutifs des échantillons testés (0 U/ml, 6 U/ml, 12 U/ml, 25 U/ml, 50 U/ml et 100 U/ml). Si le test s'est déroulé correctement, la calibration est colorée à la fin du test, avec un signal dépendant de la cinétique du substrat et des caractéristiques de l'échantillon. La régression logarithmique obtenue en mesurant les 6 points de courbe simule la cinétique de liaison d'un auto-anticorps sur son antigène spécifique, les résultats semi-quantifiés obtenus sur cette trousse sont alors beaucoup plus corrélés avec la concentration d'auto-anticorps présente dans l'échantillon.

Le point de courbe 6 U/ml correspond à la valeur seuil (CO = valeur cut-off) pour l'interprétation finale des résultats (voir point 10). Le logiciel Dr Dot émet un message d'erreur si la condition $0 \text{ U/ml} < 6 \text{ U/ml} < 12 \text{ U/ml} < 25 \text{ U/ml} < 50 \text{ U/ml} < 100 \text{ U/ml}$ n'est pas vérifiée.

Les **contrôles conjugués (IgG, IgM et IgA)** sont constitués d'immunoglobulines immobilisées de différents sous-types (G, M et A). Si le test a été effectué correctement, seul le spot IgG réagit. Le logiciel Dr Dot émet un message d'erreur si la valeur du contrôle IgG est trop faible ($< 15 \text{ UA}$) et/ou si les contrôles IgM et IgA sont trop élevés ($> 15 \text{ UA}$). (UA = unités absolues)

Les **contrôles de substrat (3 triplets de spots)** consistent en une enzyme immobilisée réagissant avec le substrat enzymatique. Si le test a été effectué correctement, ces contrôles présenteront une coloration à la fin du test. Le logiciel Dr Dot émet un message d'erreur si la pente calculée sur la régression linéaire des 3 triplets de spots n'est pas conforme aux spécifications ($0,1 < \text{slope} < 3,0$).

Association BANDELETTES/CARTOUCHES

Les bandelettes et les cartouches d'une même trousse partagent le même numéro de lot et doivent être utilisées ensemble. Veiller à ne pas dissocier les composants d'une trousse ou d'associer d'une manière erronée ceux-ci car le BDI le détectera comme une configuration invalide et arrêtera le test.

Pour autant que toutes les paires bandelettes/cartouches soient valides, le BDI peut tester différents types de trousses en même temps. Par contre, seulement des trousses ayant le même numéro de protocole (et donc le même temps d'incubation et les mêmes étapes) peuvent être automatisées simultanément (cf. le numéro de protocole indiqué page 1, sous la référence de la trousse).

9.1 Préparation du test sur BDI I

Avant toute utilisation du BDI I, veuillez vous référer au manuel d'utilisation fourni avec l'instrument.

- Amener toutes les cassettes de réactifs à température ambiante ($+18^{\circ}\text{C}$ to $+25^{\circ}\text{C}$) avant utilisation.
- Une liste de travail (soit éditée par le logiciel Dr Dot, soit une liste externe) pourrait faciliter le chargement correct des bandelettes, cartouches et échantillons de patients.
- Vérifier que le porte-cartouches est bien fixé dans son emplacement dans le BDI I.
- Vérifier que le BDI I est branché.

La liste des étapes ci-dessous résume le chargement et la préparation du BDI I, des bandelettes, des cartouches et des échantillons de patients avant le début du test. Consulter le Manuel Utilisateur du BDI I pour des informations plus détaillées en cas de problème.

1. Allumer le BDI I et attendre quelques secondes jusqu'à ce que la date et l'heure s'affichent sur l'écran tactile.
2. Confirmer la date et l'heure en appuyant sur **V** à l'écran tactile (en cas de première utilisation ou lors d'un reset, consulter le Manuel Utilisateur du BDI I) ; "Initialiser?" est affiché à l'écran.
3. Confirmer l'initialisation en appuyant sur **V**; le bras horizontal de l'automate se place automatiquement en position centrale ; "Charger bandelettes (24") est affiché.
4. (Veiller à ne pas confirmer le nombre de bandelettes directement). Enlever le peigne de son emplacement sur le bras horizontal en le soulevant doucement. Insérer les bandelettes à tester: tenir le peigne face numérotée vers le haut (position ouverte) et insérer les bandelettes, également face numérotée (réactive) vers le haut, en introduisant la partie supérieure des porte-bandelettes (langue) dans l'espace prévu à cet effet du peigne. Vérifier la bonne insertion en appliquant une légère pression sur le porte-bandelettes.

Notes:

Toujours charger à partir de la position 1 du peigne (côté gauche) et ne pas laisser d'espace vide entre les bandelettes.

Lorsque toutes les bandelettes sont chargées, vérifier visuellement l'alignement vertical, horizontal et latéral des bandelettes. Tout mauvais alignement doit être corrigé en sortant les bandelettes du peigne et en les insérant à nouveau.

Des résidus plastiques peuvent se former lors de la séparation des bandelettes et provoquer des décalages sur le peigne; pour éviter des problèmes lors de la réalisation des tests sur le BDI I ou lors de la lecture avec le logiciel Dr Dot, ceux-ci doivent être éliminés avec une simple paire de ciseaux.

5. Replacer le peigne dans son emplacement sur le bras vertical du BDI I en poussant légèrement vers le bas.
6. Sélectionner le nombre de bandelettes chargées sur le peigne en utilisant les flèches haut et bas sur l'écran tactile.
7. Confirmer le nombre de bandelettes chargées en appuyant sur **V**; le bras horizontal se déplace alors automatiquement vers l'arrière du BDI I et se positionne au-dessus des trous de référence du porte-cartouches ; "Vérifier alignement" est affiché à l'écran.
8. Utiliser la fonction "Pas à Pas" pour vérifier l'alignement correct des bandelettes: maintenir une légère pression sur la flèche (bas) jusqu'à ce que les porte-bandelettes entrent dans les trous de référence. Si l'alignement est correct, les bandelettes ne touchent pas le bord des trous de référence.

Note: en cas de mauvais alignement (contact des bandelettes avec le porte-cartouches), consulter le Manuel Utilisateur du BDI.

9. Confirmer le bon alignement des bandelettes en appuyant sur **V**; le BDI I descend les bandelettes complètement dans les trous de référence et commence la lecture des codes à barre des bandelettes → une fois la lecture des codes à barres terminée, l'écran affiche "Insérer les cartouches".

Note: si un ou plusieurs codes à barres des bandelettes n'est pas lu (LED clignotantes aux positions non-lues), consulter le Manuel Utilisateur du BDI.

10. Ouvrir les cartouches de réactifs et les insérer, sous leur bandelette respective, dans l'encoche prévue à cet effet du porte-cartouches.
11. Confirmer l'insertion des cartouches en appuyant sur **V**; le BDI I procède à la lecture des codes à barres des cartouches et vérifie la bonne association avec les bandelettes; une fois la lecture des codes à barre terminée, le nombre de bandelettes (associations bandelettes/cartouches validées) est affiché.

Note: dans le cas où un ou plusieurs codes à barre de cartouche sont illisibles, ou dans le cas d'une mauvaise association bandelette/cartouche (LED clignotantes aux positions correspondantes), consulter le Manuel Utilisateur du BDI I.

12. Confirmer le nombre de bandelettes en appuyant sur **V**; le numéro de protocole identifié sur les codes à barres est affiché à l'écran (ID protocole : xx.).
13. Confirmer le numéro de protocole en appuyant sur **V**; "Fermer le capot svp" est affiché à l'écran.
14. Fermer le capot du BDI et confirmer la fermeture en appuyant sur **V**; le BDI réalise un premier lavage (prétraitement) en incubant les bandelettes dans le 2ème puits des cartouches (Etape de lavage: 1 minute); à la fin de cette étape, l'écran affiche "Ouvrir le capot svp".
15. Ouvrir le capot du BDI et confirmer l'ouverture en appuyant sur **V**; le bras horizontal se déplace alors automatiquement vers l'avant du BDI et présente les bandelettes à l'utilisateur ; l'écran affiche "Sécher les bandelettes".

We Apply Science

16. Sécher les bandelettes en appuyant doucement le papier absorbant à la base des porte-bandelettes, au niveau de la petite cupule servant à charger l'échantillon.
17. Confirmer le séchage des bandelettes en appuyant sur **V**; l'écran affiche "Déposer les échantillons".
18. Déposer les échantillons en insérant 10 µl de sérum de patient dans la petite cupule à la base des porte-bandelettes.
Note:
Alternativement, les 10µl de sérum peuvent être déposés directement dans le diluent (1er puits de la cartouche). Cette intervention peut être réalisée à n'importe quel moment après l'ouverture de la cartouche (voir point 9.1).
19. Confirmer l'ajout des échantillons en appuyant sur **V**; "Fermer le capot svp" est affiché à l'écran.
Fermer le capot du BDI I et confirmer la fermeture en appuyant sur **V**; le BDI I démarre automatiquement le test en suivant les étapes du protocole (cf. 9.3). Une fois le test terminé, le peigne se déplace en position centrale pour faciliter la manipulation du peigne. L'automate émet un beep et l'écran affiche "Test fini".
20. Sécher les bandelettes en appuyant doucement le papier absorbant à la base des porte-bandelettes, au niveau de la petite cavité servant à charger l'échantillon et laisser les bandelettes sécher pendant 30 minutes avant d'interpréter les résultats. L'interprétation doit être faite dans les 24 heures qui suivent la réalisation du test. En cas d'utilisation du BlueScan et du Dr Dot, laisser les bandelettes révélées attachées sur le peigne.

ENREGISTREMENT DES DONNÉES DU TEST

Les données du test peuvent être téléchargées en appuyant sur le symbole de la clé USB et en suivant les indications à l'écran (Insérer clé USB → Ecriture clé USB → Enlever clé USB). Cette étape n'est pas obligatoire, mais fortement recommandée pour établir la traçabilité et répondre à certaines exigences réglementaires.

9.2 Préparation du test sur BDI II

Avant toute utilisation du BDI II, veuillez vous référer au manuel d'utilisation fourni avec l'instrument.

- Amener tous les composants à température ambiante (+18°C to +25°C) avant utilisation.
- Toutes les étapes de préparations nécessitant l'intervention de l'utilisateur sont clairement indiquées dans l'interface d'utilisation du BDI II. C'est l'instrument qui indique le nombre et le type de tests à utiliser suivant les indications réalisées par l'opérateur à l'étape d'identification des échantillons. L'opérateur est guidé par l'interface machine depuis l'insertion des échantillons et des kits à tester, jusqu'à l'interprétation finale des résultats.
- Ne pas oublier d'ouvrir les cartouches de réactifs avant de les insérer dans le support.

9.3 Réalisation du test (Protocole 02) pour toutes les trousse immunodot D-tek sur BDI I et BDI II):

Etape	Description	Temps
01.	Les bandelettes sont incubées dans le 1 ^{er} puits de la cartouche (<i>Diluent pour échantillon</i>). Une fois en contact avec le diluent, l'échantillon préalablement déposé (cf. 8.1.18) est libéré de la petite cavité et dilué grâce à l'agitation.	30 min
02.	Le peigne se déplace vers l'avant et les bandelettes sont incubées dans le 2 ^{ème} puits (<i>Tampon de lavage</i>).	2 min
03.	Le peigne se déplace vers l'avant et les bandelettes sont incubées dans le 3 ^{ème} puits (<i>Tampon de lavage</i>).	2 min
04.	Le peigne se déplace vers l'avant et les bandelettes sont incubées dans le 6 ^{ème} puits (<i>Tampon de lavage</i>).	2 min
05.	Le peigne se déplace vers l'arrière et les bandelettes sont incubées dans le 5 ^{ème} puits (<i>Conjugué</i>).	10 min
06.	Le peigne se déplace vers l'arrière et les bandelettes sont incubées dans le 4 ^{ème} puits (<i>Tampon de lavage</i>).	2 min
07.	Le peigne se déplace vers l'arrière et les bandelettes sont incubées dans le 3 ^{ème} puits (<i>Tampon de lavage</i>).	2 min
08.	Le peigne se déplace vers l'arrière et les bandelettes sont incubées dans le 2 ^{ème} puits (<i>Tampon de lavage</i>).	2 min
09.	Le peigne se déplace vers l'avant et les bandelettes sont incubées dans le 7 ^{ème} puits (<i>Substrat</i>).	10 min
10.	Le peigne se déplace vers l'arrière et les bandelettes sont incubées dans le 6 ^{ème} puits (<i>Tampon de lavage</i>).	2 min

10. INTERPRETATION DES RESULTATS

L'évaluation des résultats est réalisée via le logiciel Dr Dot et le scanner BlueScan. Veuillez vous référer au manuel d'utilisation.

NB: Le logiciel Dr Dot est seulement un logiciel d'aide à l'interprétation. L'interprétation clinique finale doit toujours être réalisée par un clinicien ou un médecin expérimenté.

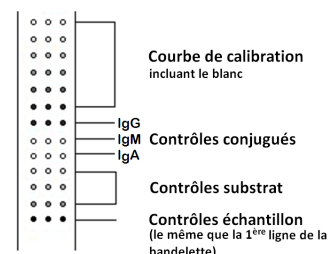
AVIS IMPORTANT : La positivité de tous les paramètres de cette trousse n'est pas possible, et un tel résultat n'est pas valide. Un test supplémentaire doit être effectué pour établir le diagnostic.

1. Enlever le peigne du BDI. Laissez les bandelettes attachées au peigne. **Attention : les bandelettes doivent être complètement sèches avant de commencer l'étape de numérisation !**
2. Insérer le peigne dans l'emplacement prévu à cet effet dans le capot du scanner BlueScan. Veiller à introduire le peigne de telle manière que la face réactive des bandelettes soit sur la vitre du scanner.
3. Démarrer la numérisation des bandelettes au moyen du logiciel Dr Dot.

10.1 Validité des contrôles:

Avant d'analyser les résultats sur les différents antigènes, le logiciel Dr Dot vérifie automatiquement les points suivants pour valider les différentes étapes du test:

- **La courbe de calibration (incluant le blanc)** (6 lignes de triplets, incluant le blanc, d'une intensité croissante depuis le haut vers le bas de la bandelette) doit correspondre à une équation de courbe prédéterminée.
- **Les contrôles échantillon** (2 lignes de triplets, première et dernière ligne sur la bandelette) doivent avoir une intensité de coloration minimum.
- **Les contrôles conjugué** (3 lignes de triplets, correspondant respectivement au contrôle IgG, IgM et IgA depuis le haut vers le bas de la bandelette) doivent avoir une intensité de coloration minimum et correspondre au type de conjugué à utiliser avec la trousse utilisée.
- **Les contrôles substrat** (3 lignes de triplets, avec une intensité de coloration croissante, depuis le haut vers le bas de la bandelette) doivent correspondre à une régression linéaire prédéterminée.



10.2 Interprétation semi-quantitative des résultats

Chaque bandelette contient une **courbe de calibration** intégrée et composée de 6 points de dilution avec les valeurs de 0 (blanc), 6, 12, 25, 50 et 100 U/ml. Le logiciel Dr Dot mesure la valeur moyenne de l'intensité de coloration des triplets de chaque antigène, calcule la valeur correspondante sur la courbe de calibration, puis compare cette valeur à la valeur cut-off/seuil préalablement déterminée pour évaluer le résultat.

Valeur en échelle de gris d'un triplet de dots (UA) = $m * \ln(a * \text{Valeur correspondante en U/ml} + b)$

Sur la base de cette régression, la valeur en échelle de gris de chaque dot d'antigène est calculée en U/ml. Dans cette trousse, **la valeur seuil (CO) est fixée à 6 U/ml** pour tous les antigènes.



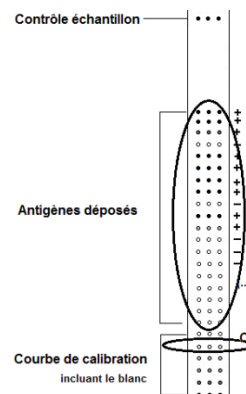
RESULTAT POSITIF :

Un échantillon est considéré comme positif pour un anticorps spécifique si la valeur de l'intensité de coloration du dot d'antigène correspondant est supérieure à la valeur CO.

Dans la feuille principale des résultats, le logiciel Dr DOT met en évidence les antigènes pour lesquels le résultat est positif et indique la valeur numérique calculée entre parenthèses.

RESULTAT NEGATIF:

Un échantillon est considéré comme négatif pour un anticorps spécifique si la valeur de l'intensité de coloration du dot d'antigène correspondant est égale ou inférieure à la valeur CO



Résultats Dr Dot (U/ml)	Interprétation
< 6	négatif
6 - 12	équivoque
> 12	positif

Pour plus d'information concernant le logiciel Dr Dot et le BlueScan, se référer au Manuel Utilisateur du logiciel Dr Dot.

10.1 Recommandations importantes pour l'interprétation des résultats

1. Etant donné que la trousse constitue une aide au diagnostic, le diagnostic ne doit pas être établi uniquement sur base de cette trousse. Les résultats doivent être toujours interprétés en tenant compte de l'examen clinique, de l'historique du patient et des résultats obtenus au moyen d'autres méthodes.
Aucune technique utilisée seule ne peut écarter la possibilité de résultats faussement positifs ou faussement négatifs. Dans cette optique, un test d'immunofluorescence indirecte devrait, dans la mesure du possible, être réalisé au préalable à la détermination des auto-anticorps faite avec cette trousse. L'immunofluorescence étant reconnue comme méthode de référence en auto-immunité.
2. L'intensité du résultat n'est pas forcément liée au degré d'intensité de la maladie mais bien au taux d'anticorps détectés.
3. Des faibles concentrations d'auto-anticorps peuvent être observées chez des patients sains. Pour cette raison, un résultat positif faible (proche du CO ou entre 6 et 12 U/ml), bien que valide, doit être considéré comme équivoque. Dans un tel cas, il est recommandé de réaliser un nouveau test du patient, de préférence en utilisant un nouvel échantillon. Si le résultat reste équivoque après ce nouveau test, d'autres tests de diagnostic et / ou clinique doivent être utilisés pour aider à déterminer le statut auto-immun du patient.
4. Pour diverses raisons et dans certaines conditions, il est possible que la trousse montre un défaut de performance (cf. 10.4 *Dépannage*). Dans ce cas, les résultats ne sont pas valides et donc ininterprétables. Il est recommandé de répéter le test. Si le défaut persiste, veuillez contacter votre distributeur.
5. L'intensité des résultats peut diminuer lorsque la trousse est utilisée en fin de vie. Toutefois, les performances de la trousse ne sont pas affectées (détection des positifs et des négatifs) dans des conditions normales d'utilisation et de stockage.
6. Le prélèvement séquentiel (à des dates différentes) d'un patient auto-immun peut parfois conduire à des résultats différents d'un échantillon à l'autre. Cette différence peut avoir plusieurs raisons : le traitement suivi par le patient, l'évolution de la maladie ou une séroconversion. Dans le cas spécifique d'une séroconversion, le résultat peut être positif pour un auto-anticorps dans un premier prélèvement du patient, et devenir positif pour un autre auto-anticorps dans un prélèvement ultérieur du même patient.

10.2 Dépannage

Problème	Causes possibles + actions
Discordance de résultats par rapport à une méthode de référence	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisation <ul style="list-style-type: none"> • Mauvais sérum pipeté • mauvais volume dispensé • Utilisation de deux échantillons différents d'un même patient (voir point 10.3.6) ou mauvaise manipulation/stockage des échantillons entre les tests • mauvais traitement de lecture Dr Dot - Matériel <ul style="list-style-type: none"> → répétez le test • substance interférente dans l'échantillon • l'échantillon est un mélange de différents sérums humains - Méthode <ul style="list-style-type: none"> → répétez le test et confirmer sur d'autres méthodes • performance intrinsèque du kit (cf 11.2 / sensibilité et spécificité analytique) • kit expiré • problème de stabilité <p>Veuillez contacter votre distributeur pour toute demande de support technique complémentaire.</p>
Résultats différents dans un même lot ou entre plusieurs lots	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisation <ul style="list-style-type: none"> • Mauvais sérum pipeté • mauvais volume dispensé • mauvais traitement de lecture Dr Dot - Méthode <ul style="list-style-type: none"> → répétez le test • performance intrinsèque du kit (cf 11.1 / répétabilité et reproductibilité)
Contamination entre bandelettes voisines	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisation <ul style="list-style-type: none"> • Erreur de pipetage → répétez le test • Verticalité des bandelettes incorrecte sur le BDI

	→ corrigez la verticalité Veillez contacter votre distributeur pour toute demande de support technique complémentaire.
RC absent ou faible	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisation <ul style="list-style-type: none"> • Oubli d'ajout du sérum → répétez le test • Patient déficient en immunoglobuline → répétez le test pour confirmation du statut du patient • Réactifs endommagés → vérifiez l'intégrité des réactifs, contacter votre distributeur en cas de suspicion de problème • Dot absent de la bandelette → comptez le nombre de spots présents sur la bandelette, contactez votre distributeur en cas de nombre incorrect
Courbe de calibration / Contrôle IgG / Contrôles de substrat absents ou faibles	<ul style="list-style-type: none"> • Réactifs endommagés → vérifiez l'intégrité des réactifs, contacter votre distributeur en cas de suspicion de problème • Dot absent de la bandelette → comptez le nombre de spots présents sur la bandelette, contactez votre distributeur en cas de nombre incorrect • Patient déficient en immunoglobuline → répétez le test pour confirmation du statut du patient
La spécification des points de courbe 0 U/ml < 6 U/ml < 12 U/ml < 25 U/ml < 50 U/ml < 100 U/ml n'est pas vérifiée	<ul style="list-style-type: none"> • mauvaise lecture du Dr Dot → vérifiez le positionnement de la lecture
Contrôles IgA et/ou IgM trop élevés	<ul style="list-style-type: none"> • substance interférente dans l'échantillon / bruit de fond élevé → désactivez la lecture des contrôles IgA/IgM
Accroches non spécifiques / bruit de fond / CO élevé	<ul style="list-style-type: none"> • Suspicion de la présence d'un contaminant ou d'une substance interférente dans l'échantillon → répétez le test et confirmez sur d'autres méthodes Veillez contacter votre distributeur pour toute demande de support technique complémentaire.
Codes-barres des bandelettes ou des cassettes illisibles	<ul style="list-style-type: none"> • Problème de fabrication, contactez votre distributeur
Contenu de la trousse incorrect	<ul style="list-style-type: none"> • Problème de fabrication, contactez votre distributeur
Résultats positifs sur tous les biomarqueurs de la trousse	<ul style="list-style-type: none"> • Problème de réactifs, contactez votre distributeur • Déficit en IgG (courbe de calibration basse)

NOTE :

Les risques résiduels majeurs de la trousse, révélés par l'analyse de risque de la trousse en fin de conception (après mitigation), sont les suivants :

- 1) **Risque de faux résultats lié à une erreur de pipetage (mauvais sérum)**
- 2) **Risque de faux résultats lié à une substance interférente contenue dans l'échantillon**

11. PERFORMANCES

11.1 Répétabilité et Reproductibilité

Des échantillons de référence ont été testés pour chaque anticorps dans des séries successives statistiquement représentatives tant dans un même essai que lors de différents essais et entre différents lots afin de calculer respectivement la variation intra- et inter-essais et inter-lots. Dans tous les cas, les variations d'intensité de coloration des dots se trouvaient dans les limites attendues suivantes :

- CV ≤ 10% pour les tests intra-essais
- CV ≤ 15% pour les tests inter-essais
- CV ≤ 20 % pour les tests inter-lots.

11.2 Sensibilité analytique

Plage de mesure (résultats semi-quantifiés) : De 0 U/ml (négatif) à 100 U/ml (positif élevé).

Limite de détection : la plus petite valeur mesurée du test est de 6 U/ml (considérée comme équivoque selon l'algorithme d'interprétation, voir point 10.2).

Comme aucune norme internationale n'est disponible pour les auto-anticorps, la justesse de la mesure et la linéarité ne s'appliquent pas à ce produit.

11.3 Spécificité analytique

1. Les principaux interférents connus ont été testés sur chaque biomarqueur de la trousse. Pour chaque concentration de substance interférente testée, la différence entre le résultat de l'échantillon sans interférent et le résultat obtenu en présence de la substance interférente ne dépasse pas 15 %.

Substance interférente	Concentration max.	Concentration intermédiaire	Concentration min.	Différence <15%
Bilirubine	100 mg/dL	50 mg/dL	25 mg/dL	Oui
Hémoglobine	200 mg/dL	100 mg/dL	50 mg/dL	Oui
Cholestérol	224.3 mg/dL	112 mg/dL	56 mg/dL	Oui
Facteur rhumatoïde IgM	~500IU/ml	~300IU/ml	~100IU/ml	Oui

Remarque : Il est impossible de tester la totalité des possibles interférents décrits. D'autres interférences sont possibles, entres autres de sources médicamenteuses.

2. La haute spécificité analytique du test est garantie par la qualité de l'antigène utilisé. Cette trousse détecte les anticorps IgG contre Nucleosome, dsDNA, Histones, Sm, RNP 68kD/A/C, Sm/RNP, SSA/Ro 60kD, SSA/Ro 52kD, SSB, Scl-70, RNA Polymerase III, Ku, PM-Scl 100, Mi-2, Jo-1, CENP-A/B, PCNA, Ribosome P0 et DFS-70. Aucune réaction croisée avec d'autres auto-anticorps n'a été constatée.

11.4 Sensibilité et spécificité cliniques

Des échantillons de référence caractérisés (confirmés positifs ou négatifs pour des anticorps spécifiques par des laboratoires et/ou des méthodologies de référence) ont été testés en suivant les instructions du test. La sensibilité et la spécificité ont été calculées à partir des résultats obtenus par les évaluations de performance externes et les programmes de contrôle des AQE. Un rapport clinique détaillé est disponible sur demande.

Sensibilité: Le pourcentage est calculé sur base de la formule suivante: $\text{Sensibilité} = \frac{\text{Résultats vrais positifs}}{\text{Résultats vrais positifs} + \text{Résultats faux négatifs}}$			
Antigène	Résultat vrai positif	Résultat faux négatif	Sensibilité
Nucleosome	5	0	>99
dsDNA	14	1	93
Histones	1	0	>99
Sm	10	0	>99
RNP 68kD/A/C	12	0	>99
Sm/RNP	14	0	>99
SSA/Ro 60kD	36	0	>99
SSA/Ro 52kD	15	0	>99
SSB	12	0	>99
Scl-70	6	0	>99
RNA Polymerase III	1	0	>99
Ku	1	0	>99
PM-Scl 100	2	0	>99
Mi-2	2	0	>99
Jo-1	13	0	>99
CENP-A/B	7	0	>99
PCNA	2	0	>99
Ribosome P0	2	1	67
DFS-70	4	0	>99

Spécificité: Le pourcentage est calculé sur base de la formule suivante: $\text{Spécificité} = \frac{\text{Résultats vrais négatifs}}{\text{Résultats vrais négatifs} + \text{Résultats faux positifs}}$			
Antigène	Résultat vrai négatif	Résultat faux positif	Spécificité
Nucleosome	34	0	>99
dsDNA	61	0	>99
Histones	25	0	>99
Sm	66	0	>99
RNP 68kD/A/C	63	0	>99
Sm/RNP	59	0	>99
SSA/Ro 60kD	40	1	98
SSA/Ro 52kD	25	0	>99
SSB	52	1	98
Scl-70	70	0	>99
RNA Polymerase III	20	0	>99
Ku	20	0	>99
PM-Scl 100	27	0	>99
Mi-2	19	0	>99
Jo-1	196	0	>99
CENP-A/B	69	0	>99
PCNA	39	0	>99
Ribosome P0	26	0	>99
DFS-70	25	0	>99

Remarque : les valeurs de sensibilité et de spécificité de 100 % sont strictement liées aux cohortes d'échantillons utilisées dans les évaluations cliniques. En théorie, une trousse de diagnostic ne devrait pas être considérée comme sensible ou spécifique à 100 % (noté: au moins > 99 %).

11.5 Valeurs diagnostiques des auto-anticorps

Anti-Nucleosome	Marqueur diagnostic du lupus érythémateux systémique Sensibilité de 56-90 %. Peut être détecté dans les phases initiales de la maladie Peut être détecté dans les lupus médicamenteux
Anti-dsDNA	Marqueur diagnostic (Critères ACR et SLICC) du lupus érythémateux systémique. Fréquemment détectés (>95 %) dans les lupus avec implication rénale, >50-70% dans les lupus systémiques actifs et <40% pour les inactifs. Associé à la sévérité du lupus (marqueur pronostique). Peut être détecté (1-12%) chez certains patients atteints d'arthrite rhumatoïde, d'arthrite idiopathique juvénile, de syndrome de Sjögren, de myasthenia gravis, d'hépatite auto-immune, d'uvéïte, de lupus médicamenteux ou dans des maladies infectieuses diverses.
Anti-Histones	Peut être détecté dans différentes maladies rhumatismales : <ul style="list-style-type: none"> - le lupus érythémateux systémique (50-80%) - le lupus médicamenteux (92-95%) - l'arthrite rhumatoïde (11%) - le syndrome de Felty (79%) - l'arthrite juvénile idiopathique (51%) - la sclérodermie systémique (30%) - les maladies indifférenciées du tissu conjonctif (90%) - la cirrhose biliaire primitive (55%) - l'hépatite auto-immune (35%). De hauts titres en anti-histone en l'absence d'autres marqueurs du le lupus érythémateux systémique est caractéristique d'un lupus médicamenteux.
Anti-Sm	Marqueur diagnostic (Critères ACR et SLICC) du lupus érythémateux systémique Spécificité diagnostique de 99% pour le lupus érythémateux systémique Sensibilité de 5-40 % pour le lupus érythémateux systémique
Anti-RNP 68kD/A/C	Critère diagnostique des connectivites mixtes. Très spécifique et sensible à 100 % en cas d'absence d'anti-Sm et d'anti-dsDNA, Trouvé dans 13 à 32 % de patients atteints de lupus érythémateux systémique, Trouvé dans 10 % des cas de sclérodermies systémiques
Anti-Sm/RNP	Sm : Marqueur diagnostic (Critères ACR et SLICC) du lupus érythémateux systémique Spécificité diagnostique de 99% pour le lupus érythémateux systémique Sensibilité de 5-40 % pour le lupus érythémateux systémique RNP 68kD/A/C: Critère diagnostique des connectivites mixtes. Très spécifique et sensible à 100 % en cas d'absence d'anti-Sm et d'anti-dsDNA, Trouvé dans 13 à 32 % de patients atteints de lupus érythémateux systémique, Trouvé dans 10 % des cas de sclérodermies systémiques
Anti-SSA/Ro 60kD	Marqueur diagnostic et critère de classification des syndromes de Sjögren. Par test immuno-enzymatique (IEA) Trouvé dans 96% des syndromes de Sjögren primaires Trouvé dans 80% pour les syndromes secondaires Trouvé dans 25-60% des cas de lupus érythémateux systémique,

	Trouvé dans 90-100 % des cas de lupus érythémateux cutanés par Enzyme Immuno-essai, Trouvé dans 90% des cas de syndrome du lupus néonatal Trouvé plus rarement (5-15%) dans les arthrites rhumatoïdes Trouvé dans 9% des sclérodermies systémiques.
Anti-SSA/Ro 52kD	Trouvés dans une variété de maladies auto-immunes : lupus érythémateux systémique (23%), syndromes de Sjögren (17-63%), sclérodermie systémique (20%), arthrite rhumatoïde (8%), cirrhose biliaire primitive (28%), hépatite auto-immune (17%). Souvent présents conjointement chez les patients atteints de myosites avec les anti-synthétases, anti-SRP, anti-PM-Scl et anti-Jo-1. Peuvent être détectés chez les patients atteints de sclérodermie systémique, en association avec les Scl-70, CENP-A, CENP-B, RNA-PIII et PM-Scl. Marqueur de sévérité des syndromes anti-synthétases et de risques pulmonaires dans les maladies auto-immunes rhumatismales.
Anti-SSB	Marqueur diagnostique des syndromes de Sjögren Par test immuno-enzymatique (IEA) Trouvé dans 70% du syndrome de Sjögren primaire Trouvé dans 50% du syndrome de Sjögren secondaire Trouvé dans 25% des cas de lupus érythémateux systémique, Trouvé dans 80 % des cas de lupus érythémateux cutanés Trouvé dans 70% des cas de syndrome du lupus néonatal
Anti-Scl-70	Marqueur diagnostique des sclérodermies systémiques. Spécificité diagnostique de 99%, sensibilité de 10 % pour les formes limitées et jusqu'à 65% pour les formes diffuses.
Anti-RNA Polymerase III	Spécificité diagnostique de 98-100% pour la sclérodermie systémique.
Anti-Ku	Trouvé dans 23% des patients atteints d'hypertension pulmonaire. Trouvé dans 1.8 à 23 % de patients atteints de lupus érythémateux systémique. Trouvé dans 1.2 à 14 % des cas de sclérodermies systémiques. Trouvé dans 2 à 33% des cas de syndrome de recouvrement des myosites.
Anti-PM-Scl 100	Marqueur diagnostique des maladies du tissu conjonctif avec myosites et symptôme de sclérodermies systémique. Spécificité diagnostique de 50-70% pour les syndromes de recouvrement polymyosites/sclérodermies, de 20% pour les myosites idiopathiques et de 10% pour les → sclérodermies systémiques. Sensibilité diagnostique de 24-55% pour les syndromes de recouvrement polymyosites/sclérodermies, de 8-12% pour les myosites idiopathiques et de 1-16% pour les sclérodermies systémiques.
Anti-Mi-2	Marqueur diagnostique des myosites idiopathiques, sensibilité de 4-18 %. Détectable dans 15-31% des patients adultes atteints de dermatomyosites et dans 10-15% pour les dermatomyosites juvéniles. Marqueur pronostique d'une bonne réponse au traitement, mais associé à un risque plus élevé de développement d'un cancer. Détectable dans les phases initiales de développement de la myosite.
Anti-Jo-1	Marqueur diagnostique des myosites auto-immunes idiopathiques. Spécificité diagnostique de 100%, sensibilité de 24-30 % pour les myosites auto-immunes idiopathiques.
Anti-CENP-A/B	Marqueur diagnostique des sclérodermies. Sensibilité de 57-82 % pour les formes limitées et de 3-12% pour les formes diffuses. Trouvé dans 10 à 30 % de patients atteints de cirrhoses biliaires primitives.
Anti-PCNA	Hautement spécifique du lupus érythémateux systémique, peu fréquent (3-7%).
Anti-Ribosome P0	Marqueur diagnostique du lupus érythémateux systémique (>99%), trouvé chez 10-35% des patients lupiques. Associé à l'activité de la maladie (marqueur pronostique). Peut être détecté avant les manifestations cliniques de la maladie (marqueur prédictif).
Anti-DFS-70	Les plus hautes fréquences ont été identifiées chez les patients atteints de syndrome de Vogt-Koyanagi-Harada (77%), de dermatite atopique (30-71%) et d'asthme (16%). Détecté chez 5-11% des patients sains. Détecté seul (sans autre marqueur), il est considéré comme un marqueur d'exclusion de développement d'une maladie auto-immune systémique rhumatismale.

Références des publications:

- Orme ME, Andalucia C, Sjölander S, Bossuyt X. A comparison of a fluorescence enzyme immunoassay versus indirect immunofluorescence for initial screening of connective tissue diseases: Systematic literature review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2018 Aug;32(4):521-534. doi: 10.1016/j.berh.2019.03.005. Epub 2019 Apr 15. PMID: 31174821.
- Jeong S, Hwang H, Roh J, Shim JE, Kim J, Kim GT, Tag HS, Kim HS. Evaluation of an Automated Screening Assay, Compared to Indirect Immunofluorescence, an Extractable Nuclear Antigen Assay, and a Line Immunoassay in a Large Cohort of Asian Patients with Antinuclear Antibody-Associated Rheumatoid Diseases: A Multicenter Retrospective Study. *J Immunol Res.* 2018 May 2;2018:9094217. doi: 10.1155/2018/9094217. PMID: 29854849; PMCID: PMC5954951.
- Shovman O, Gilburd B, Chayat C, Amital H, Langevitz P, Watad A, Guy A, Perez D, Azoulay D, Blank M, Segal Y, Bentow C, Mahler M, Shoenfeld Y. Prevalence of anti-DFS70 antibodies in patients with and without systemic autoimmune rheumatic diseases. *Clin Exp Rheumatol.* 2018 Jan-Feb;36(1):121-126. Epub 2017 Jul 27. PMID: 28770702.
- Zheng B, Wang Z, Mora RA, Liu A, Li C, Liu D, Zhai F, Liu H, Gong H, Zhou J, Liu J, Chen L, Wu L, Yuan L, Ying L, Jie L, He M, Hao M, Xu P, Lu Q, Han S, Chen S, Chen S, Zhu S, Sun W, Guo X, Chen Y, Wang Y, Qu Y, Li Z, Niu Z, Han Z, Chan EKL. Anti-DFS70 Antibodies Among Patient and Healthy Population Cohorts in China: Results From a Multicenter Training Program Showing Spontaneous Abortion and Pediatric Systemic Autoimmune Rheumatic Diseases Are Common in Anti-DFS70 Positive Patients. *Front Immunol.* 2020 Oct 2;11:562138. doi: 10.3389/fimmu.2020.562138. PMID: 33133072; PMCID: PMC7566153.
- Hayashi N, Uto K, Imanishi A, Sugiyama D, Morinobu A, Saegusa J. Prevalence of anti-dense fine speckled 70 antibodies in healthy individuals and patients with antinuclear antibody-associated autoimmune rheumatic diseases in Japan. *Medicine (Baltimore).* 2021 Mar 5;100(9):e24556. doi: 10.1097/MD.00000000000024556. PMID: 33655922; PMCID: PMC7939200.
- Aberle T, Bourn RL, Munroe ME, Chen H, Roberts VC, Guthridge JM, Bean K, Robertson JM, Sivils KL, Rasmussen A, Liles M, Merrill JT, Harley JB, Olsen NJ, Karp DR, James JA. Clinical and Serologic Features in Patients With Incomplete Lupus Classification Versus Systemic Lupus Erythematosus Patients and Controls. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2017 Dec;69(12):1780-1788. doi: 10.1002/acr.23201. Epub 2017 Nov 14. PMID: 28118528; PMCID: PMC5524597.

- 7: Zian Z, Maamar M, Aouni ME, Barakat A, Naima Ghailani Nourouti, El Aouad R, Arji N, Bennani Mechita M. Immunological and Clinical Characteristics of Systemic Lupus Erythematosus: A Series from Morocco. *Biomed Res Int.* 2018 Sep 30;2018:3139404. doi: 10.1155/2018/3139404. PMID: 30363993; PMCID: PMC6186365.
- 8: Wei Q, Jiang Y, Xiao M, Zhang X, Qi J, Xie J, Wu J, Wu Z, Gu J. Comparison of chemiluminescence microparticle immunoassay, indirect immunofluorescence assay, linear immunoassay and multiple microbead immunoassay detecting autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol.* 2020 Mar;91(3):e12849. doi: 10.1111/sji.12849. Epub 2020 Jan 3. PMID: 31899559.
- 9: Au EY, Ip WK, Lau CS, Chan YT. Evaluation of a multiplex flow immunoassay versus conventional assays in detecting autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Hong Kong Med J.* 2018 Jun;24(3):261-269. doi: 10.12809/hkmj177007. Epub 2018 May 25. PMID: 29807953.
- 10: Betteridge ZE, Woodhead F, Lu H, Shaddick G, Bunn CC, Denton CP, Abraham DJ, du Bois RM, Lewis M, Wells AU, McHugh NJ. Brief Report: Anti-Eukaryotic Initiation Factor 2B Autoantibodies Are Associated With Interstitial Lung Disease in Patients With Systemic Sclerosis. *Arthritis Rheumatol.* 2016 Nov;68(11):2778-2783. doi: 10.1002/art.39755. PMID: 27273608.
- 11: René Louis Humbel, Groupe d'étude de l'auto-immunité (GEAI), l'info n°7, Mise au point anticorps anti Mi-2, Anticorps anti-DFS70/LEDGF/P75, p3, p6 mai 2015
- 12: Karsten Conrad, Werner Schössler, Falk Hiepe, Marvin J. Fritzler, Book "Autoantibodies in systemic Autoimmune Diseases", Volume 2, third edition – 2015

12. LIMITES DU TEST

1. Les résultats obtenus avec ce test de confirmation sont dépendants des performances intrinsèques de la trousse et doivent être considérés comme une aide au diagnostic final, en prenant en considération les résultats obtenus par une technique de référence et les données cliniques du patient.
2. Dans le cas d'échantillons hyper-lipémiques, il est recommandé de les centrifuger avant de pipeter les 10µl d'échantillon, qui doivent être prélevés dans le surnageant.
3. Il n'y a aucun lien entre la concentration des différents auto-anticorps détectés par le dispositif et la gravité des maladies auto-immunes associées.
4. La concentration des auto-anticorps dans un échantillon de sérum n'est pas relative aux résultats fournis par le dispositif.

Version D
Dernière révision: 09/2025