

## 1. INDICATIONS D'UTILISATION

La trousse BlueDiver Quantrix Liver<sup>10</sup> IgG contient 24 tests Immunodot permettant la détection, dans le sérum humain, des auto-anticorps IgG dirigés contre les antigènes suivants: M2/nPDC, M2/OGDC-E2, M2/BCOADC-E2, M2/PDC-E2, gp210, sp100, LKM1, LC1, SLA et F-actin.

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 une population étendue, de routine.

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 scanner/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.

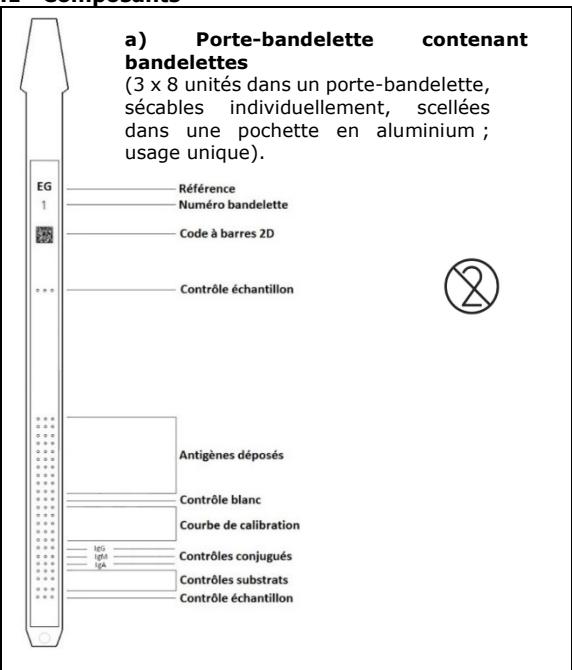
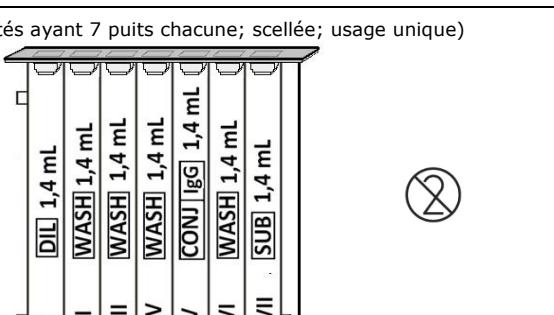
Le test est basé sur une méthode immuno-enzymatique. Les bandelettes sont composées d'une membrane fixée sur un support plastique spécifique. Durant l'automatisation du test, le BlueDiver Instrument incube les bandelettes successivement dans les puits des cartouches contenant les réactifs prêts à l'emploi. 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><b>a) Porte-bandelette contenant bandelettes</b> (3 x 8 unités dans un porte-bandelette, sécables individuellement, scellées dans une pochette en aluminium ; usage unique).</p> 	<p><b>b) Cartouche</b> (24 unités ayant 7 puits chacune; scellée; usage unique)</p> 
<p><b>Diluant pour échantillon</b></p>	<p>I<sup>ère</sup> position, 1 x 1,4 ml (jaune) contenu: <math>H_2O</math> • TBS • BSA • NaCl • Tween • conservateur • colorant • émulsion anti-mousse</p>
<p><b>Tampon de lavage</b></p>	<p>II<sup>ème</sup>, III<sup>ème</sup>, IV<sup>ème</sup> et VI<sup>ème</sup> position, 4 x 1,4 ml (incolore) contenu: <math>H_2O</math> • TBS • NaCl • Tween • conservateur • émulsion anti-mousse</p>
<p><b>Conjugué</b></p>	<p>V<sup>ème</sup> position, 1 x 1,4 ml (rouge) contenu: <math>H_2O</math> • TBS • NaCl • KCl • MgCl<sub>2</sub> • immuno-globulines de chèvre anti-IgG humaines/AP • conservateur • colorant • émulsion anti-mousse</p>
<p><b>Substrat</b></p>	<p>VII<sup>ème</sup> position, 1 x 1,4 ml (solution jaune pâle) contenu: <math>H_2O</math> • conservateur • MgCl<sub>2</sub> • TBS • stabilisateur NBT • NBT • BCIP</p>
<p><b>c) Documents:</b> Manuel d'utilisation (IFU), Certificat d'Analyse (CoA)</p>	

## Abréviations en ordre alphabétique:

AP = Phosphatase alcaline; BCIP = Bromo-Chloro-Indolyl-Phosphate; BSA = Albumine de sérum bovin; KCl = Chlorure de potassium; MgCl<sub>2</sub> = 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](http://www.d-tek.be)

**Symboles utilisés sur les étiquettes des trousse**

	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**

M2/nPDC	Sous-unités E1, E2, E3 du complexe pyruvate déshydrogénase) (purifié de cœur bovin)
M2/OGDC-E2	Sous-unité E2 du complexe 2-Oxo-Glutarate déshydrogénase (recombinant, humain, longueur complète, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
M2/BCOADC-E2	Sous-unité E2 du complexe Branched-Chain Oxo-Acid déshydrogénase (recombinant, humain, longueur complète, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
M2/PDC-E2	Sous-unité E2 du complexe pyruvate déshydrogénase (recombinant, humain, longueur complète, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
gp210	Glycoprotéine associée aux complexes du pore nucléaire (séquence de 36 acides aminés correspondant à la queue cytoplasmique C-terminale de gp210) (humain, recombinant, exprimé dans E.coli)
sp100	Protéine de 100 kD du corps nucléaire (recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
LKM1	Cytochrome oxydase P450 2D6 (antigène de type I du microsome foie-rein) (recombinant, humain, longueur complète, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
LC1	Formiminotransférase cyclodéaminase (antigène de type I du cytosol du foie) (recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus)
SLA	Antigène soluble du foie (recombinant, humain, exprimé dans les cellules bactériennes E.coli)
F-actin	Filaments d'actine polymérisés in-vitro (préparé à partir d'actine-G (muscle squelettique du lapin)

**3.3 Ingrédients réactifs**

Substance	Origine	But prévu dans les trousse Liver	Concentration dans les trousse Liver	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-immunoglobuliques
Antigène M2/nPDC	Purifié de cœur bovin	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	< 0,5 mg/ml Un dot M2/nPDC = 25 nl sur chaque bandelette	> 80%
Antigène M2/OGDC-E2	Recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	< 0,5 mg/ml Un dot M2/OGDC = 25 nl sur chaque bandelette	> 80%
Antigène M2/BCOADC-E2	Recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	< 0,5 mg/ml Un dot M2/BCOADC = 25 nl sur chaque bandelette	> 80%
Antigène M2/PDC-E2	Recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	< 0,5 mg/ml Un dot gp2 M2/PDC = 25 nl sur chaque bandelette	> 80%
Antigène gp210	Recombinant, humain, exprimé dans E.coli	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	< 0,5 mg/ml Un dot gp210 = 25 nl sur chaque bandelette	> 80%

Antigène sp100	Recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	< 0,5 mg/ml Un dot sp100 = 25 nl sur chaque bandelette	> 80%
Antigène LKM1	Recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	< 0,5 mg/ml Un dot LKM1 = 25 nl sur chaque bandelette	> 80%
Antigène LC1	Recombinant, humain, exprimé dans les cellules Sf9 infectées par le Baculovirus	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	< 0,5 mg/ml Un dot LC1 = 25 nl sur chaque bandelette	> 80%
Antigène SLA	Recombinant, humain, exprimé dans E.coli	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	< 0,5 mg/ml Un dot SLA = 25 nl sur chaque bandelette	> 80%
Antigène F-actin	Préparé à partir d'actine-G (muscle squelettique du lapin))	Biomarqueur (antigène) déposé sur les bandelettes	< 0,5 mg/ml Un dot F-actin = 25 nl sur chaque bandelette	> 80%
Protéine L	Bactérien (Peptostrepto coccus magnus)	Contrôle réactif (positif)	0,01 mg/ml Un dot RC = 25 nl sur chaque bandelette	> 95%
Streptavidine - Phosphatase alcaline	Bactérien (Streptomyces avidinii)	Contrôle de seuil (négatif)	< 0,1 µg/ml Un dot CO = 25 nl 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:



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.

**BDI II:**



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

- 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.
- 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 <sub>3</sub>	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° Indexe : 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 de cellulose	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.

3. 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.
4. 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.
5. 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

1. 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.
2. La responsabilité de D-tek s.a. se limite dans tous les cas au remplacement de la trousse.
3. 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 sérum 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 sérum 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 PRÉLIMINAIRES, 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 U/ml < 6 U/ml < 12 U/ml < 25 U/ml < 50 U/ml < 100 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 UA) et/ou si les contrôles IgM et IgA sont trop élevés (>15 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 < 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 trousse en même temps. Par contre, seulement des trousse 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°C to +25°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".
  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 DONNEES 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 <sup>er</sup> 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 <sup>ème</sup> puits ( <i>Tampon de lavage</i> ).	2 min
03.	Le peigne se déplace vers l'avant et les bandelettes sont incubées dans le 3 <sup>ème</sup> puits ( <i>Tampon de lavage</i> ).	2 min
04.	Le peigne se déplace vers l'avant et les bandelettes sont incubées dans le 6 <sup>ème</sup> puits ( <i>Tampon de lavage</i> ).	2 min
05.	Le peigne se déplace vers l'arrière et les bandelettes sont incubées dans le 5 <sup>ème</sup> puits ( <i>Conjugué</i> ).	10 min
06.	Le peigne se déplace vers l'arrière et les bandelettes sont incubées dans le 4 <sup>ème</sup> puits ( <i>Tampon de lavage</i> ).	2 min
07.	Le peigne se déplace vers l'arrière et les bandelettes sont incubées dans le 3 <sup>ème</sup> puits ( <i>Tampon de lavage</i> ).	2 min
08.	Le peigne se déplace vers l'arrière et les bandelettes sont incubées dans le 2 <sup>ème</sup> puits ( <i>Tampon de lavage</i> ).	2 min
09.	Le peigne se déplace vers l'avant et les bandelettes sont incubées dans le 7 <sup>ème</sup> puits ( <i>Substrat</i> ).	10 min
10.	Le peigne se déplace vers l'avant et les bandelettes sont incubées dans le 6 <sup>ème</sup> 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.**

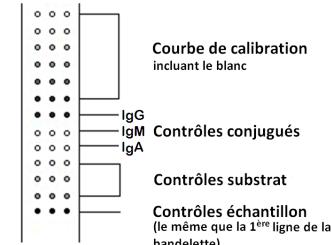
**AVIS IMPORTANT : La positivité de tous les paramètres de cette trousse n'est pas possible, et un tel résultat n'est pas valide. Un test supplémentaire doit être effectué pour établir le diagnostic.**

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 (inclusant 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 pré-déterminée.
- **Les contrôles échantillon** (2 lignes de triplets, première et dernière ligne sur la bandelette) doivent avoir une intensité de coloration minimum.
- **Les contrôles conjugués** (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 une régression linéaire pré-déterminée.

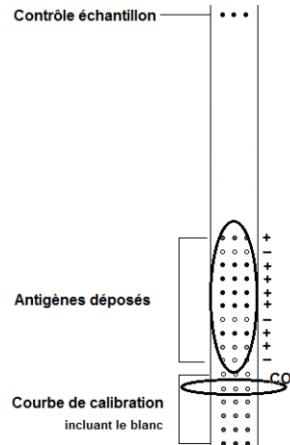


### 10.2 Interprétation semi-quantitative des résultats

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\* 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 (déttection 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

## 10.2 Dépannage

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.

Problème	Causes possibles + actions
Discordance de résultats par rapport à une méthode de référence	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utilisation <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mauvais sérum pipeté</li> <li>• mauvais volume dispensé</li> <li>• Utilisation de deux échantillons différents d'un même patient (voir point 10.3.6) ou mauvaise manipulation/stockage des échantillons entre les tests</li> <li>• mauvais traitement de lecture Dr Dot</li> <li>→ répétez le test</li> </ul> </li> <li>- Matériel <ul style="list-style-type: none"> <li>• substance interférente dans l'échantillon</li> <li>• l'échantillon est un mélange de différents sérum humains</li> <li>→ répétez le test et confirmer sur d'autres méthodes</li> </ul> </li> <li>- Méthode <ul style="list-style-type: none"> <li>• performance intrinsèque du kit (cf 11.2 / sensibilité et spécificité analytique)</li> <li>• kit expiré</li> <li>• problème de stabilité</li> </ul> </li> </ul> <p><b>Veuillez contacter votre distributeur pour toute demande de support technique complémentaire.</b></p>
Résultats différents dans un même lot ou entre plusieurs lots	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utilisation <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mauvais sérum pipeté</li> <li>• mauvais volume dispensé</li> <li>• mauvais traitement de lecture Dr Dot</li> <li>→ répétez le test</li> </ul> </li> <li>- Méthode <ul style="list-style-type: none"> <li>• performance intrinsèque du kit (cf 11.1 / répétabilité et reproductibilité)</li> </ul> </li> </ul>
Contamination entre bandelettes voisines	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utilisation <ul style="list-style-type: none"> <li>• Erreur de pipetage</li> <li>→ répétez le test</li> <li>• Verticalité des bandelettes incorrecte sur le BDI</li> <li>→ corrigez la verticalité</li> </ul> </li> </ul> <p><b>Veuillez contacter votre distributeur pour toute demande de support technique complémentaire.</b></p>
RC absent ou faible	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utilisation <ul style="list-style-type: none"> <li>• Oubli d'ajout du sérum</li> <li>→ répétez le test</li> <li>• Patient déficient en immunoglobuline</li> <li>→ répétez le test pour confirmation du statut du patient</li> <li>• Réactifs endommagés</li> <li>→ vérifiez l'intégrité des réactifs, contacter votre distributeur en cas de suspicion de problème</li> <li>• Dot absent de la bandelette</li> <li>→ comptez le nombre de spots présents sur la bandelette, contactez votre distributeur en cas de nombre incorrect</li> </ul> </li> </ul>
Courbe de calibration / Contrôle IgG / Contrôles de substrat absents ou faibles	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réactifs endommagés</li> <li>→ vérifiez l'intégrité des réactifs, contacter votre distributeur en cas de suspicion de problème</li> <li>• Dot absent de la bandelette</li> <li>→ comptez le nombre de spots présents sur la bandelette, contactez votre distributeur en cas de nombre incorrect</li> <li>• Patient déficient en immunoglobuline</li> <li>→ répétez le test pour confirmation du statut du patient</li> </ul>
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"> <li>• mauvaise lecture du Dr Dot</li> <li>→ vérifiez le positionnement de la lecture</li> </ul>
Contrôles IgA et/ou IgM trop élevés	<ul style="list-style-type: none"> <li>• substance interférente dans l'échantillon / bruit de fond élevé</li> <li>→ désactivez la lecture des contrôles IgA/IgM</li> </ul>
Accroches non spécifiques / bruit de fond / CO élevé	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Suspicion de la présence d'un contaminant ou d'une substance interférente dans l'échantillon</li> <li>→ répétez le test et confirmez sur d'autres méthodes</li> </ul> <p><b>Veuillez contacter votre distributeur pour toute demande de support technique complémentaire.</b></p>
Codes-barres des bandelettes ou des cassettes illisibles	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Problème de fabrication, contactez votre distributeur</li> </ul>
Contenu de la trousse incorrect	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Problème de fabrication, contactez votre distributeur</li> </ul>
Résultats positifs sur tous les biomarqueurs de la trousse	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Problème de réactifs, contactez votre distributeur</li> <li>• Déficit en IgG (courbe de calibration basse)</li> </ul>

**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.	Déférence <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, entre 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 M2/nPDC, M2/OGDC-E2, M2/BCOADC-E2, M2/PDC-E2, gp210, sp100, LKM1, LC1, SLA et F-actin. 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: <i>Résultats vrais positifs</i>			
<i>Sensibilité</i> = $\frac{\text{Résultats vrais positifs}}{\text{Résultats vrais positifs} + \text{Résultats faux négatifs}}$			
Antigène	Résultat vrai positif	Résultat faux négatif	Sensibilité
M2/nPDC	47	0	>99
M2-OGDC-E2	47	0	>99
M2-BCOADC-E2	47	0	>99
M2-PDC-E2	47	0	>99
gp210	2	0	>99
sp100	4	0	>99
LKM1	11	0	>99
LC1	1	0	>99
SLA	4	0	>99
f-Actin	4	1	80

Spécificité:			
Le pourcentage est calculé sur base de la formule suivante: <i>Résultats vrais négatifs</i>			
<i>Spécificité</i> = $\frac{\text{Résultats vrais négatifs}}{\text{Résultats vrais négatifs} + \text{Résultats faux positifs}}$			
Antigène	Résultat vrai négatif	Résultat faux positif	Spécificité:
M2/nPDC	222	1	99
M2-OGDC-E2	222	1	99
M2-BCOADC-E2	222	1	99
M2-PDC-E2	222	1	99
gp210	33	0	>99
sp100	121	0	>99
LKM1	110	0	>99
LC1	34	0	>99
SLA	31	0	>99
f-Actin	99	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-M2/nPDC	<p>Les anti-M2/nPDC sont des anticorps marqueurs de la <i>cholangite biliaire primitive (CBP)</i> et sont détectables dans près de 95 % des cas. Ils comptent pour les trois critères de diagnostic de la CBP.</p> <p>Bien qu'ils soient hautement spécifiques de la CBP, les anti-M2/nPDC peuvent également être détectés chez les patients atteints de <i>maladies rhumatismales inflammatoires chroniques</i>. On pense que ces patients ont un risque accru de développer une CBP en plus de la maladie sous-jacente. En particulier, dans la variante <i>CREST</i> positive de la <i>sclérose systémique</i>, il existe un risque accru de développer une CBP (Fregeau et al., 1988 ; Zurgil et al., 1992). Chez les patients atteints de <i>SLE</i>, la présence d'Anti- M2/nPDC est significativement associée à une augmentation des <i>aminotransférases</i> (Li et al., 2006).</p> <p>Les Anti- M2/nPDC sont détectables chez 3-6% des patients atteints d'<i>hépatite auto-immune (HAI) de type 1</i>. Il s'agit le plus souvent de cas de syndrome de <i>chevauchement de l'AIH et de la PBC</i>. Le <i>chevauchement HAI/CBC</i> doit être envisagé lorsque le rapport ALP/aminotransférase est inférieur à 1,5, que les IgG sont élevées et que les SMA sont présentes avec un titre supérieur à 1:80 (Bowlus &amp; Gershwin, 2014).</p> <p>Les anti- M2/nPDC peuvent être prédictifs. Ils peuvent apparaître des années avant les manifestations de la CBP. Les personnes présentant des taux d'anticorps anti- M2/nPDC élevés de manière persistante ont un risque plus élevé de développer une CBP. Des études prospectives ont montré que 76 % des patients positifs aux Anti- M2/nPDC asymptomatiques sur une période d'observation de 11 à 24 ans sont diagnostiqués avec une CBP (Metcalf et al., 1996). La prévalence des Anti- M2/nPDC chez les parents au premier degré des patients atteints de CBP est élevée (13,1 %) (Nakamura et al., 2014).</p>
--------------	---

	<p>Les titres d'Anti- M2/nPDC ne changent pas au fil du temps et ne sont pas associés à la gravité ou à la progression de la maladie (Benson et al., 2004). D'autre part, certains groupes ont montré que le titre d'anti- M2/nPDC diminue avec le traitement par UDCA (Nakamura et al., 2014).</p> <p>Les anti- M2/nPDC persistent après une transplantation hépatique.</p>
Anti-M2-OGDC-E2 Anti-M2-BCOADC-E2 Anti-M2-PDC-E2	<p>Les AMA-M2 sont dirigés contre les protéines des composants E2 des complexes enzymatiques de la famille des 2-oxoacides déshydrogénases (2-OACD). Les antigènes cibles centraux de ces complexes sont :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Le complexe pyruvate déshydrogénase (PDC-E2, PDH-E2).</li> <li>• Complexe de la 2-oxoacide déshydrogénase à chaîne ramifiée (BCOADC-E2), parfois connu sous le nom de cétoacide déshydrogénase à chaîne ramifiée (BCKD).</li> <li>• Complexe 2-oxoglutarate déshydrogénase (OGDC-E2, OADC-E2), également connu sous le nom d'a-cétoglutarate déshydrogénase (KGD).</li> <li>• Protéine de liaison à la dihydroliopamide déshydrogénase (E3) (E3BP) Sous-unité E1a du complexe pyruvate déshydrogénase (PDC-E1a).</li> </ul> <p>Chacun de ces antigènes est composé de trois sous-unités (E1, E2, E3), l'épitope immunodominant de chacun étant E2.</p> <p>Voir Anti-M2/nPDC pour les valeurs diagnostiques</p>
Anti-gp210	<p>Les anticorps anti-gp210 sont hautement spécifiques de la cholangite biliaire primitive (CBP) et sont détectables par dosage immunoenzymatique chez 10 à 45 % des patients atteints de CBP avec une spécificité de 99,5 %. Elles sont rarement ou très rarement observées dans les hépatites auto-immunes, l'hépatite B chronique (12,6 %), la polyarthrite rhumatoïde, la polymyosite ou le syndrome de Sjögren. Leur éventuelle valeur prédictive est actuellement inconnue.</p> <p>Le titre des anticorps anti-gp210 dépend de l'activité de la maladie ou de sa progression.</p> <p>Les anticorps anti-gp210 sont associés à des manifestations extra-hépatiques, comme l'arthrite. Ils sont également considérés comme des marqueurs pronostiques d'une mauvaise évolution et sont corrélés à un risque plus élevé d'insuffisance hépatique.</p> <p>Les anticorps anti-gp210 persistent après une transplantation hépatique et constituent donc un marqueur inadapté d'une éventuelle récidive de la maladie.</p>
Anti-sp100	<p>Les anticorps anti-sp100 sont spécifiques (97%) de la cholangite biliaire primitive (CBP) avec une sensibilité diagnostique de 20-40%. Ces auto-anticorps sont relativement fréquents (48 %) dans le groupe des patients AMA négatifs présentant une CBP cliniquement et histologiquement prouvée.</p> <p>Les anticorps anti-sp100 semblent être associés aux infections urinaires. 74% des patients atteints de CBP et présentant des infections urinaires sont positifs aux anticorps anti-sp100 (Bogdanos et al., 2003).</p> <p>Les anticorps anti-sp100 ont été trouvés à faible fréquence dans la maladie rhumatoïde (3 % dans la polyarthrite rhumatoïde, jusqu'à 10 % dans le lupus érythémateux disséminé, ~5 % dans la sclérose systémique, 2 % dans le syndrome de Gougerot-Sjögren).</p> <p>Les anticorps anti-sp100 persistent après une transplantation hépatique et constituent donc un marqueur inapproprié pour une éventuelle récidive de la maladie.</p>
Anti-LKM1	<p>Les anticorps LKM1 sont des anticorps marqueurs de l'hépatite auto-immune (AIH) de type 2 et sont inclus dans les critères diagnostiques de l'AIH du groupe international d'hépatite auto-immune avec une sensibilité de 90-95% chez les patients (principalement) jeunes. Ils font également partie des critères simplifiés de l'AIH. Les patients atteints de l'AIH de type 2 sont généralement négatifs aux tests ANA et SMA. Dans la cholangite biliaire primitive (CBP) et la cholangite sclérosante primitive (CSP), les anticorps anti-LKM1 sont rarement détectés. Les anticorps anti-LKM1 sont présents dans ~50-60% des cas avec les anticorps anti-LC1, mais ils peuvent aussi être détectés isolément.</p>
Anti-LC1	<p>Les anticorps anti-LC1 sont détectables chez 30 à 59 % des patients atteints d'hépatite auto-immune (AIH) de type 2 et constituent un critère de diagnostic du groupe international d'hépatite auto-immune. Ils sont principalement présents chez les enfants et les jeunes patients et sont souvent associés aux anticorps anti-LKM1. Chez 50 à 60 % des patients positifs aux anticorps anti-LKM1, les anticorps anti-LC1 sont également détectés comme deuxième anticorps marqueur du stade de l'AIH de type 2. Chez ~10% des patients atteints de l'AIH de type 2, les anticorps LC1 sont les seuls anticorps marqueurs trouvés. Chez les enfants atteints de l'AIH de type 2, les anticorps LC1 sont plus fréquents (59%) que chez les adultes (28,6%).</p>
Anti-SLA	<p>Les anticorps SLA/LP sont hautement spécifiques de l'hépatite auto-immune (AIH) de type 3. Bien que la définition de l'AIH de type 3 soit controversée, car elle n'est cliniquement et thérapeutiquement pas différente de l'AIH de type 1, il s'agit clairement d'une entité distincte en raison des anticorps SLA/LP. La sensibilité diagnostique a été rapportée comme étant de 19 à 33 %. Leur valeur prédictive positive est de près de 100 %.</p>
Anti-F-actin	<p>Les titres élevés d'anti-F-actine sont des anticorps marqueurs et constituent par conséquent des critères diagnostiques du groupe international sur l'hépatite auto-immune (trois points dans le système de notation pour un titre &gt;1 : 80, deux points pour 1:80 et un point pour 1:40) pour l'hépatite auto-immune (HAI) de type 1. Ils font également partie des critères simplifiés de l'HAI. Ils sont très souvent associés aux anticorps antinucléaires (ANA), mais ils peuvent être positifs de manière isolée chez ~35% des patients atteints d'HAI de type 1. La sensibilité et la spécificité diagnostiques de l'HAI de type 1 sont de ~80% et 96%, respectivement.</p> <p>Par conséquent, un résultat négatif pour l'anti-F-actine ne permet pas d'exclure complètement l'HAI. Le titre a une corrélation limitée avec l'activité de la maladie. Seuls les titres élevés &gt;1:80 sont associés à l'activité de la maladie. Ni le titre d'anticorps au moment du diagnostic ni le comportement des anticorps au cours de la maladie ne sont des marqueurs pronostiques. Remarque : chez les enfants, un titre de 1:20 peut être pertinent pour le diagnostic.</p> <p>- La plupart des faibles titres d'anti-F-actine peuvent être trouvés dans les infections virales, telles que la mononucléose infectieuse, l'hépatite C chronique (8-10%), mais aussi dans les maladies rhumatismales, la cholangite biliaire primaire (PBC) (22%), les patients atteints de maladie alcoolique du foie (3-16%) et les maladies néoplasiques. Leur prévalence chez les individus sains est de ~5%.</p>

#### Références des publications:

- 1: Chen BH, Wang QQ, Zhang W, Zhao LY, Wang GQ. Screening of anti-mitochondrial antibody subtype M2 in residents at least 18 years of age in an urban district of Shanghai, China. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2016 May;20(10):2052-60. PMID: 27249604.
- 2: Pang SY, Dai YM, Zhang RZ, Chen YH, Peng XF, Fu J, Chen ZR, Liu YF, Yang LY, Wen Z, Yu JK, Liu HY. Autoimmune liver disease-related autoantibodies in patients with biliary atresia. World J Gastroenterol. 2018 Jan 21;24(3):387-396. doi: 10.3748/wjg.v24.i3.387. PMID: 29391761; PMCID: PMC5776400.
- 3: Zandanell S, Strasser M, Feldman A, Tevini J, Strebinger G, Niederseer D, Pohla-Gubo G, Huber-Schönauer U, Ruhaltinger S, Paulweber B, Datz C, Felder TK, Aigner E. Low rate of new-onset primary biliary cholangitis in a cohort of anti-mitochondrial antibody-



We Apply Science



2797

IFU – Mode d'emploi  
LI10Q-24/p. 11 of 12

positive subjects over six years of follow-up. *J Intern Med.* 2020 Apr;287(4):395-404. doi: 10.1111/joim.13005. *Epub* 2019 Dec 4. PMID:31802567; PMCID: PMC7154539.

4: Calise SJ, Zheng B, Hasegawa T, Satoh M, Isailovic N, Ceribelli A, Andrade LEC, Boylan K, Cavazzana I, Fritzler MJ, de la Torre IG, Hiepe F, Kohl K, Selmi C, Shoenfeld Y, Tincani A, Chan EKL; IUIS Autoantibody Standardization Committee. Reference standards for the detection of anti-mitochondrial and anti-rods/rings autoantibodies. *Clin Chem Lab Med.* 2018 Sep 25;56(10):1789-1798. doi: 10.1515/cclm-2017-1152. PMID: 29478040; PMCID: PMC8128709.

5: Amin K, Rasool AH, Hattem A, Al-Karboly TA, Taher TE, Bystrom J. Autoantibody profiles in autoimmune hepatitis and chronic hepatitis C identifies similarities in patients with severe disease. *World J Gastroenterol.* 2017 Feb 28;23(8):1345-1352. doi: 10.3748/wjg.v23.i8.1345. PMID: 28293081; PMCID: PMC5330819.

6: Deng CW, Wang L, Fei YY, Hu CJ, Yang YJ, Peng LY, Zeng XF, Zhang FC, Li YZ. Exploring pathogenesis of primary biliary cholangitis by proteomics: A pilot study. *World J Gastroenterol.* 2017 Dec 28;23(48):8489-8499. doi: 10.3748/wjg.v23.i48.8489. PMID: 29358857; PMCID: PMC5752709.

7: Yannick Chantrana , Christophe Corpechotb, David Haddouk, et al., Groupe d'étude de l'auto-immunité (GEAI), 8eme Colloque, Anticorps anti-gp210 et anticorps anti-Sp100 dans la cirrhose biliaire primitive: une association de très mauvais pronostic, n°464 bis, juillet/août 2014

8: Karsten Conrad, Werner Schössler, Falk Hiepe, Marvin J. Fritzler, Book "Autoantibodies in organ Autoimmune Diseases", Volume 8, second edition – 2017

9: Vanderlocht J, van der Cruys M, Stals F, Bakker-Jonges L, Damoiseaux J. Multiplex autoantibody detection for autoimmune liver diseases and autoimmune gastritis. *J Immunol Methods.* 2017 Sep;448:21-25. doi: 10.1016/j.jim.2017.05.003. *Epub* 2017 May 16. PMID: 28522403

## 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 hyperlipémiques, il est recommandé de les centrifuger avant de pipeter les 10µl d'échantillon, qui doivent être prélevés dans le surnageant.
3. Le diagnostic de l'hépatite auto-immune (HAI) repose sur la présence d'hypergammaglobulinémie, de cytolysé, de cholestase, d'auto-anticorps caractéristiques de l'HAI ou de la CBP (Cholangite Biliaire Primitive), ainsi que de lésions histologiques inflammatoires et nécrotiques.
4. La concentration des auto-anticorps dans un échantillon de sérum n'est pas relative aux résultats fournis par le dispositif.
5. 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.

Version C  
Dernière révision: 05/2025





We Apply Science



2797

IFU – Mode d'emploi  
LI10Q-24/p. 12 of 12

