

BlueDot

Granular¹² IgG

Référence: GR12D-24

1 INDICATIONS D'UTILISATION

La trousse BlueDot Granular¹² IgG contient 24 tests Immunodot permettant la détection des auto-anticorps IgG dirigés contre les antigènes SSA/Ro 60kD, SSB(La), Scl-70, Mi-2, Ku, TIF1-γ, SAE1/2, NXP-2, RNA-PIII, DFS-70, Sm/RNP et Sm dans le sérum humain. Cette trousse est prévue pour confirmer les résultats d'aspects mouchetés/granulaires obtenus par Immunofluorescence, méthode de screening et de référence en auto-immunité, dans le cadre d'une aide au diagnostic des maladies auto-immunes suivantes (cf 11.3 *Sensibilité et spécificité cliniques* pour le lien avec chaque auto-anticorps): Lupus Erythémateux Systémique, Connectivites Mixtes (Syndrome de Sharp), Syndrome de Sjögren, Lupus Erythémateux cutané, Syndrome du Lupus Néonatal, Myosites auto-immunes, Dermatomyosites, Sclérodermies Systémiques, Syndrome de recouvrement Polymyosites/Sclérodermies.

Le test est destiné à une population étendue, de routine.

Cette trousse est strictement réservée à une utilisation professionnelle.

Cette trousse ne peut être utilisée que manuellement sur une table agitante ou dans un automate ouvert de processing immunodot, programmé selon le schéma de pipetage décrit au point 9.2.

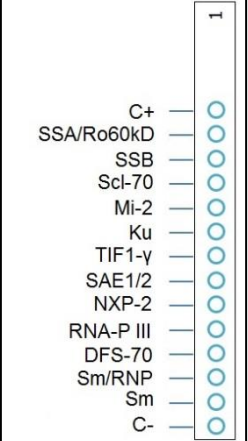
2 PRINCIPE DU TEST

Le test est basé sur une méthode immunoenzymatique. Les bandelettes sont composées d'une membrane fixée sur un support plastique. Dans la procédure de dosage, les bandelettes sont incubées avec le sérum du patient dilué au 1/151. Les anticorps, s'ils sont présents dans l'échantillon, se lient à l'antigène spécifique sur la membrane. La fraction non liée est éliminée par lavage dans l'étape suivante. Ensuite les immunoglobulines anti-IgG humaines conjuguées à de la phosphatase alcaline sont mises en incubation avec les bandelettes et se lient aux complexes antigènes-anticorps sur la surface de la membrane. Après une seconde étape de lavage permettant d'éliminer l'excès de conjugué, la solution de chromogène/substrat est ajoutée et 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.

3 CONTENU DE LA TROUSSE

Avis important : Avant toute utilisation de la trousse, assurez-vous que tous les articles mentionnés s'y trouvent. Ne pas utiliser cette trousse si elle est incomplète, si un des composants est endommagé ou si les caractéristiques de ces composants ne correspondent pas à celles décrites ci-dessous. Dans ce cas, merci de contacter votre distributeur.

3.1 COMPOSANTS

A RECONSTITUER:	Tampon de lavage (10 x)	1 x 40 ml – concentré x 10 (incolore) <i>Contient: TBS, Tween; Preservative: MIT</i>	
PRETS A L'EMPLOI :	Diluent pour échantillon	1 x 40 ml (jaune) <i>Contenu : H₂O • TBS • NaCl • Tween • BSA • MIT • colorant</i>	
	Conjugué	1 x 40 ml (rouge) <i>Contenu : H₂O • TBS • NaCl • KCl • MgCl₂ • immunoglobulines de chèvre anti-IgG humaines/AP • MIT • colorant</i>	
	Substrat	1 x 40 ml (bouteille brune, solution jaune clair) <i>Contenu: H₂O • NaN₃ (0.05 %) • MgCl₂ • TBS • stabilisateur NBT • NBT • BCIP</i>	
	Bandelettes (en tube, scellé dans une pochette aluminium)	24 unités <i>14 Dots chacune: 1 contrôle positif (C+) 12 antigènes 1 contrôle négatif (C-)</i>	
	Plaque d'incubation	3 unités <i>8 puits d'incubation par plaque</i>	

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; MIT = MethylIsoThiazolone (conservateur); NaCl = Chlorure de sodium; NaN₃: Sodium azide; 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.

3.2 ANTIGENES UTILISES

SSA/Ro60kD	Protéine Ro60kD (recombinante, humaine, exprimée en Baculovirus-Cellules Sf9 infectées)
SSB	Protéine La50kD (recombinante, humaine, exprimée en Baculovirus-Cellules Sf9 infectées)
Scl-70	DNA topoisomérase I (recombinante, humaine, exprimée en Baculovirus-Cellules Sf9 infectées)
Mi-2	Protéine CHD4, sous-unité Mi-2 beta (recombinante, humaine, exprimée en Baculovirus-Cellules Sf9 infectées)
Ku	Sous-unité régulatoire de la protéine kinase DNA-dépendante, 70/80 kD hétérodimère (recombinante, humaine, exprimée en Baculovirus-Cellules Sf9 infectées)
TIF1- γ	T ranscriptional I ntermediary F actor 1-gamma / Trim 33 (recombinante, humaine, exprimée en Baculovirus-Cellules Sf9 infectées)
SAE1/2	S mall ubiquitin-like modifier A ctivating E nzyme, sous-unités 1 et 2 (recombinante, humaine, exprimée en E.Coli)
NXP-2	N uclear M atri X P rotéine 2, aussi appelée anti-MJ (recombinante, humaine, exprimée en E.Coli)
RNA-PIII	Sous-unité 155 kD (RPC155) de la RNA-Polymérase III (recombinante, humaine, exprimée en E.Coli)
DFS-70	Facteur de croissance de l'épithélium du cristallin / D ense F ine S peckles protéin 70kD (recombinante, humaine, exprimée en E.Coli)
Sm/RNP	Particule snRNP; contient essentiellement les protéines 68kD, A, BB', C et D; une quantité significative de snRNA est détectable (purifiée à partir de 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 (purifiée à partir de thymus bovin)

4 MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Agitateur/ Micropipettes / Chronomètre / éprouvette graduée / eau distillée ou dé ionisée / pinces / papier absorbant.

5 CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

Une fois reconstituée, la solution de lavage est conservée pendant au moins un mois à 2-8°C.
Conserver tous les réactifs et les bandelettes à 2-8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de chaque flacon ou tube.
Les bandelettes non utilisées doivent être remises dans leur tube et leur pochette aluminium scellée, et conservées à 2-8°C.

6 PRECAUTIONS D'UTILISATION

1. Tous les réactifs sont destinés au diagnostic in vitro et à une utilisation professionnelle. 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 (voir MSDS).
Néanmoins, le produit contient des conservateurs qui peuvent posséder (dans leur concentration donnée), des propriétés légèrement polluantes ou provoquant une sensibilisation de la peau. Donc tout contact avec la peau, les yeux ou les muqueuses doit être évité. Comme pour tout produit chimique contenant des risques spécifiques, le produit/les composants du produit ne doivent être manipulés que par du personnel qualifié et avec les précautions nécessaires pour les produits chimiques.
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 bouteilles de réactifs 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.

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 Prélèvement des échantillons, MANIPULATION ET CONSERVATION

Le test doit être utilisé de préférence sur des échantillons récemment prélevés.
Les sérums présentant des particules devraient être centrifugés à faible vitesse.
Les échantillons de sang doivent être recueillis dans des tubes secs ou dans des tubes contenant de l'EDTA ou de l'héparine. Après séparation, les échantillons sériques doivent être utilisés immédiatement ou aliquotés et conservés à 2-8°C pendant deux ou trois jours ou congelés à -20°C pour de plus longues périodes. Eviter les congélations-décongélations répétées des échantillons.

9 PROCEDURE DE TEST

INDICATIONS PRELIMINAIRES

Les dots sont pré-colorés en bleu sur les bandelettes ; ceci garantit que tous les antigènes ont été correctement adsorbés sur la membrane. Cette coloration bleue disparaît pendant la première étape de la procédure ; la membrane devient alors légèrement rose ; cette coloration disparaît à la fin de la procédure.

Veillez à maintenir la face réactive (annotation et spots visibles) vers le haut durant l'entièreté du test.

Pendant la procédure, il est nécessaire d'agiter la plaque d'incubation pour garantir une circulation efficace des liquides sur la membrane. On peut utiliser tout agitateur rotatif (mais non orbital) dont l'amplitude et/ou la vitesse du mouvement ne cause pas d'éclaboussures des solutions et des contaminations entre les puits. Une vitesse d'agitation comprise entre 10 et 60 rpm (rotations par minute) est idéale. Si le mouvement de l'agitateur peut être réglé, il est préférable (mais non indispensable) d'utiliser une agitation légère durant les étapes d'incubation et une agitation plus forte durant les étapes de lavage.

Après le remplissage des puits avec la solution, agiter manuellement la plaque d'incubation pour que les bandelettes soient complètement immergées et pour éliminer les bulles d'air qui pourraient être coincées sous les bandelettes. Les bandelettes qui flottent, doivent être poussées dans la solution (avec des pinces ou l'embout d'une pipette appliquée sur la zone plastique d'identification).

Eviter de toucher, avec les doigts, les pinces ou l'embout de pipette, la membrane sur la bandelette. Utiliser toujours la zone plastique d'identification pour la manipulation. Toute la procédure doit être effectuée **à température ambiante**.

DESCRIPTION DES CONTROLES :

Le contrôle positif ou RC (Contrôle réactionnel) est constitué d'une protéine fixant l'entièreté des immunoglobulines de 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 Troubleshooting).

Le contrôle négatif ou CO (Cut-Off) est constitué d'une protéine réagissant avec le substrat enzymatique et avec certains éléments constitutifs de l'échantillon testé. Si le test s'est déroulé correctement, ce contrôle se colore en fin de test avec un signal dépendant de la cinétique du substrat et des caractéristiques de l'échantillon. L'intensité de ce contrôle sert de valeur seuil pour l'interprétation finale des résultats (cf. point 10 INTERPRETATION DES RESULTATS).

9.1 Préparation des réactifs

1. Amener tous les réactifs à température ambiante (18-24°C) avant utilisation.
2. Diluer le tampon de lavage concentré 10x avec de l'eau distillée.

Préparer 15 ml de tampon de lavage par bandelette utilisée.

Exemple : 1,5 ml de tampon de lavage concentré + 13,5 ml d'eau distillée pour une bandelette.

9.2 Schéma de pipetage

1. **Placer une bandelette par patient dans chaque puits** avec la face réactive au-dessus.
2. Ajouter **2 ml de solution de lavage** dans chaque puits. Incuber pendant 10 min sur agitateur
La coloration bleue des Dots disparaît complètement si les bandelettes sont correctement immergées. Si ce n'est pas le cas, prolonger l'incubation jusqu'à la disparition complète de la coloration bleue.
3. **Eliminer** la solution contenue dans les puits.
Enlever le liquide des puits en retournant doucement la plaque. Les bandelettes adhèrent au fond des puits. Appliquer le bord de la plaque d'incubation sur du papier absorbant.
4. Ajouter **1,5 ml de diluant pour échantillon** par puits.
5. Ajouter **10 µl d'échantillon** de sérum de patient dans chaque puits. **Incuber 30 minutes** sur agitateur.
Eviter de toucher la membrane avec l'embout de la pipette. Déposer l'échantillon dans la solution, de préférence sur la partie supérieure de la bandelette (sur la zone plastique d'identification).
Note : Les étapes 4 et 5 peuvent être combinées en pré-diluant les échantillons dans des tubes en verre ou en plastique (1,5 ml de diluant + 10 µl d'échantillon → Mélanger → verser dans les puits)
6. **Eliminer** la solution contenue dans les puits.
Enlever le liquide des puits en retournant doucement la plaque. Les bandelettes adhèrent au fond des puits. Appliquer le bord de la plaque d'incubation sur du papier absorbant.
7. **Laver 3 x 3 minutes** avec **1,5 ml de tampon de lavage** dans chaque puits (sur agitateur).
Après chaque étape de lavage, enlever le liquide des puits en retournant doucement la plaque. Les bandelettes adhèrent au fond des puits. Appliquer le bord de la plaque d'incubation sur du papier absorbant
8. Ajouter **1,5 ml de conjugué** dans chaque puits. **Incuber 30 minutes** sur agitateur.
9. **Eliminer** la solution contenue dans les puits

Enlever le liquide des puits en retournant doucement la plaque. Les bandelettes adhèrent au fond des puits. Appliquer le bord de la plaque d'incubation sur du papier absorbant

10. **Laver 3 x 3 minutes avec 1,5 ml de tampon de lavage** dans chaque puits (sur agitateur).
Après chaque étape de lavage, enlever le liquide des puits en renversant doucement la plaque. Les bandelettes adhèrent au fond des puits. Appliquer le bord de la plaque d'incubation sur du papier absorbant
11. Ajouter **1,5 ml de substrat** dans chaque puits. **Incuber 10 minutes** sur agitateur.
12. **Éliminer** la solution contenue dans les puits
Enlever le liquide des puits en retournant doucement la plaque. Les bandelettes adhèrent au fond des puits. Appliquer le bord de la plaque d'incubation sur du papier absorbant
13. **Laver 1 x 3 minutes** avec **1,5 ml de tampon de lavage** dans chaque puits pour arrêter la réaction.
14. **Retirer** les bandelettes des puits et les laisser sécher sur du papier absorbant pendant 30 minutes. L'interprétation doit être faite dans les 24 heures qui suivent la réalisation du test.

10 INTERPRÉTATION DES RESULTATS

Une interprétation visuelle (qualitative) des résultats des kits BlueDOT est possible, cependant l'utilisation du BlueScan scanner et du logiciel DrDOT est généralement recommandée pour plus de précision et pour une interprétation semi-quantitative.

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.

10.1 Interprétation qualitative

1. Enlever l'adhésif derrière chaque bandelette et les coller comme représenté dans le dessin sur la feuille d'interprétation des résultats fournie avec la trousse. Celui-ci indiquera les positions respectives des différents contrôles et antigènes sur la membrane.
2. Le Dot **supérieur (contrôle positif)** doit toujours être positif pour tous les échantillons.
La coloration de ce contrôle positif garantit que le test a été réalisé correctement et que les composants de la trousse ne sont pas dégradés.
3. Comparer les Dots **antigènes** avec le **contrôle** négatif toujours situé en dernière position.
L'intensité de la couleur des Dots antigènes est directement proportionnelle à la concentration de l'anticorps spécifique dans l'échantillon du patient.

Dans des conditions optimales, et si l'échantillon est dépourvu de substances interférentes, le contrôle négatif est presque incolore. Au contraire, un contrôle négatif plus coloré indique un taux important de liaisons non spécifiques dans l'échantillon.

RESULTAT POSITIF :

Un échantillon est **positif** pour un anticorps spécifique si l'intensité de la couleur du Dot **antigène** correspondant est **supérieure** à l'intensité de la couleur du **Dot Contrôle Négatif**.

RESULTAT NEGATIF :

Un échantillon est **négatif** pour un anticorps spécifique si l'intensité de la couleur du Dot **antigène** correspondant est **inférieure ou égale** à l'intensité de la couleur du **Dot Contrôle Négatif**.

10.2 Utilisation du logiciel Dr DOT et du BlueScan (matériel requis : peigne et stripholder vierges)

Le BlueScan scanner est un système de prise d'images spécialement étudié pour la lecture des immunodots D-tek. Il permet l'insertion précise et aisée des bandelettes à analyser.

Le Dr DOT est le logiciel permettant la semi-quantification des résultats. Sur base de l'image obtenue, chaque résultat sera quantifié en niveau de gris par rapport à l'échelle de référence présente sur le capot du BlueScan scanner.

Ces niveaux de gris seront transformés et affichés en unités arbitraires (de 0 à 100) sur base des intensités des contrôles (RC et CO, cf. point 9) présents sur la bandelette, selon la formule de conversion suivante :

$$\text{Résultat antigène X (UA)} = \frac{\text{Intensité de gris antigène X} - \text{Intensité de gris du CO}}{\text{Intensité de gris du RC} - \text{Intensité de gris du CO}} * 100$$

1. Préparer un peigne contenant autant de stripholder vierges que de bandelettes à scanner. Insérer chaque bandelette BlueDot dans son stripholder, RC vers le haut.
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.
4. Le logiciel semi-quantifie les résultats, l'interprétation des valeurs obtenues s'effectue de la manière suivante

Unités arbitraires Dr DOT (AU)	Interprétation
< 5	négatif
5 – 10	équivoque
> 10	positif

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

10.3 Recommandations importantes pour l'interprétations des résultats :

1. Etant donné que le kit constitue une aide au diagnostic, le diagnostic ne doit pas être établi uniquement sur base de ce kit. 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 les trousses BlueDot. 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 ctrl cut-off ou entre 5 et 10 UA Dr DOT), 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 *Troubleshooting*). 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.

10.4 Troubleshooting

Problème	Causes possibles + actions
Discordance de résultats par rapport à une méthode de référence	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisation : Mauvais sérum pipeté, mauvais volume dispensé, mauvaise interprétation visuelle ou mauvais traitement de lecture DrDOT → répéter le test - Matériel : substance interférente dans l'échantillon → répéter le test et confirmer sur d'autres méthodes - Méthode : performance intrinsèque du kit (cf 11.2 <i>Sensibilité et spécificité analytiques</i>), 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 : Mauvais sérum pipeté, mauvais volume dispensé, mauvaise interprétation visuelle ou mauvais traitement de lecture DrDOT → répéter le test - Méthode : performance intrinsèque du kit (cf 11.1 <i>Répétabilité et reproductibilité</i>)
Contamination entre bandelettes voisines	<ul style="list-style-type: none"> - Erreur de manipulation → répéter le test
RC absent ou faible	<ul style="list-style-type: none"> - Oubli d'ajout du sérum sur la bandelette → répéter le test - Patient déficient en immunoglobuline → répéter le test pour confirmation - Réactifs endommagés → vérifier l'intégrité des réactifs, contacter votre distributeur en cas de suspicion de problème - Spot absent de la tigette → compter le nombre de spots présents sur la bandelette, contacter votre distributeur en cas de nombre incorrect
CO absent	<ul style="list-style-type: none"> - Réactifs endommagés → vérifier l'intégrité des réactifs, contacter votre distributeur en cas de suspicion de problème - Spot absent de la tigette → compter le nombre de spots présents sur la bandelette, contacter votre distributeur en cas de nombre incorrect
Accroches non spécifiques / bruit de fond / CO élevé	<p>Présence d'un contaminant ou d'une substance interférente dans l'échantillon → répéter le test et confirmer sur d'autres méthodes</p> <p>Veuillez contacter votre distributeur pour toute demande de support technique complémentaire.</p>
Annotations des bandelettes incorrectes	Problème de fabrication, contacter votre distributeur
Contenu de la trousse incorrect	Problème de fabrication, contacter votre distributeur
Résultats positifs sur tous les biomarqueurs de la trousse	Problème de réactifs, contacter votre distributeur

NOTE :

Les risques résiduels majeurs du kit, révélés par l'analyse de risque du kit 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 et spécificité analytiques

Des échantillons de référence caractérisés (échantillons confirmés positifs ou négatifs pour certains anticorps spécifiques et ce par des laboratoires de référence et/ou des méthodes de référence), si disponibles, ont été testés en suivant les instructions du test. La sensibilité et la spécificité ont été calculées à partir des résultats générés par le logiciel Dr DOT.

<u>SSA/Ro60kD</u>	<u>SSB</u>	<u>Scl-70</u>	<u>Mi-2</u>																																								
<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">+</th> <th style="text-align: center;">-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>vrai positif 71</td> <td>faux positif 0</td> </tr> <tr> <td>faux négatif 0</td> <td>vrai négatif 181</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Sensibilité $\frac{71}{71} = 100 \%$</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Spécificité $\frac{181}{181} = 100 \%$</td> </tr> </tbody> </table>	+	-	vrai positif 71	faux positif 0	faux négatif 0	vrai négatif 181	Sensibilité $\frac{71}{71} = 100 \%$		Spécificité $\frac{181}{181} = 100 \%$		<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">+</th> <th style="text-align: center;">-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>vrai positif 36</td> <td>faux positif 0</td> </tr> <tr> <td>faux négatif 0</td> <td>vrai négatif 101</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Sensibilité $\frac{36}{36} = 100 \%$</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Spécificité $\frac{101}{101} = 100 \%$</td> </tr> </tbody> </table>	+	-	vrai positif 36	faux positif 0	faux négatif 0	vrai négatif 101	Sensibilité $\frac{36}{36} = 100 \%$		Spécificité $\frac{101}{101} = 100 \%$		<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">+</th> <th style="text-align: center;">-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>vrai positif 14</td> <td>faux positif 0</td> </tr> <tr> <td>faux négatif 0</td> <td>vrai négatif 238</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Sensibilité $\frac{14}{14} = 100 \%$</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Spécificité $\frac{238}{238} = 100 \%$</td> </tr> </tbody> </table>	+	-	vrai positif 14	faux positif 0	faux négatif 0	vrai négatif 238	Sensibilité $\frac{14}{14} = 100 \%$		Spécificité $\frac{238}{238} = 100 \%$		<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">+</th> <th style="text-align: center;">-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>vrai positif 24</td> <td>faux positif 1</td> </tr> <tr> <td>faux négatif 1</td> <td>vrai négatif 116</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Sensibilité $\frac{24}{25} = 96 \%$</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Spécificité $\frac{116}{117} = 99 \%$</td> </tr> </tbody> </table>	+	-	vrai positif 24	faux positif 1	faux négatif 1	vrai négatif 116	Sensibilité $\frac{24}{25} = 96 \%$		Spécificité $\frac{116}{117} = 99 \%$	
+	-																																										
vrai positif 71	faux positif 0																																										
faux négatif 0	vrai négatif 181																																										
Sensibilité $\frac{71}{71} = 100 \%$																																											
Spécificité $\frac{181}{181} = 100 \%$																																											
+	-																																										
vrai positif 36	faux positif 0																																										
faux négatif 0	vrai négatif 101																																										
Sensibilité $\frac{36}{36} = 100 \%$																																											
Spécificité $\frac{101}{101} = 100 \%$																																											
+	-																																										
vrai positif 14	faux positif 0																																										
faux négatif 0	vrai négatif 238																																										
Sensibilité $\frac{14}{14} = 100 \%$																																											
Spécificité $\frac{238}{238} = 100 \%$																																											
+	-																																										
vrai positif 24	faux positif 1																																										
faux négatif 1	vrai négatif 116																																										
Sensibilité $\frac{24}{25} = 96 \%$																																											
Spécificité $\frac{116}{117} = 99 \%$																																											
<u>Ku</u>	<u>TIF1-γ</u>	<u>SAE 1/2</u>	<u>NXP-2</u>																																								
<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">+</th> <th style="text-align: center;">-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>vrai positif 34</td> <td>faux positif 1</td> </tr> <tr> <td>faux négatif 3</td> <td>vrai négatif 127</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Sensibilité $\frac{34}{37} = 92 \%$</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Spécificité $\frac{127}{128} = 99 \%$</td> </tr> </tbody> </table>	+	-	vrai positif 34	faux positif 1	faux négatif 3	vrai négatif 127	Sensibilité $\frac{34}{37} = 92 \%$		Spécificité $\frac{127}{128} = 99 \%$		<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">+</th> <th style="text-align: center;">-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>vrai positif 7</td> <td>faux positif 0</td> </tr> <tr> <td>faux négatif 3</td> <td>vrai négatif 105</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Sensibilité $\frac{7}{10} = 70 \%$</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Spécificité $\frac{105}{105} = 100 \%$</td> </tr> </tbody> </table>	+	-	vrai positif 7	faux positif 0	faux négatif 3	vrai négatif 105	Sensibilité $\frac{7}{10} = 70 \%$		Spécificité $\frac{105}{105} = 100 \%$		<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">+</th> <th style="text-align: center;">-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>vrai positif 10</td> <td>faux positif 1</td> </tr> <tr> <td>faux négatif 2</td> <td>vrai négatif 102</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Sensibilité $\frac{10}{12} = 83 \%$</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Spécificité $\frac{102}{103} = 99 \%$</td> </tr> </tbody> </table>	+	-	vrai positif 10	faux positif 1	faux négatif 2	vrai négatif 102	Sensibilité $\frac{10}{12} = 83 \%$		Spécificité $\frac{102}{103} = 99 \%$		<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">+</th> <th style="text-align: center;">-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>vrai positif 13</td> <td>faux positif 0</td> </tr> <tr> <td>faux négatif 3</td> <td>vrai négatif 99</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Sensibilité $\frac{13}{16} = 81 \%$</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Spécificité $\frac{99}{99} = 100 \%$</td> </tr> </tbody> </table>	+	-	vrai positif 13	faux positif 0	faux négatif 3	vrai négatif 99	Sensibilité $\frac{13}{16} = 81 \%$		Spécificité $\frac{99}{99} = 100 \%$	
+	-																																										
vrai positif 34	faux positif 1																																										
faux négatif 3	vrai négatif 127																																										
Sensibilité $\frac{34}{37} = 92 \%$																																											
Spécificité $\frac{127}{128} = 99 \%$																																											
+	-																																										
vrai positif 7	faux positif 0																																										
faux négatif 3	vrai négatif 105																																										
Sensibilité $\frac{7}{10} = 70 \%$																																											
Spécificité $\frac{105}{105} = 100 \%$																																											
+	-																																										
vrai positif 10	faux positif 1																																										
faux négatif 2	vrai négatif 102																																										
Sensibilité $\frac{10}{12} = 83 \%$																																											
Spécificité $\frac{102}{103} = 99 \%$																																											
+	-																																										
vrai positif 13	faux positif 0																																										
faux négatif 3	vrai négatif 99																																										
Sensibilité $\frac{13}{16} = 81 \%$																																											
Spécificité $\frac{99}{99} = 100 \%$																																											
<u>RNA Polymerase III</u>	<u>DFS-70</u>	<u>Sm/RNP</u>	<u>Sm</u>																																								
<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">+</th> <th style="text-align: center;">-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>vrai positif 5</td> <td>faux positif 0</td> </tr> <tr> <td>faux négatif 0</td> <td>vrai négatif 110</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Sensibilité $\frac{5}{5} = 100 \%$</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Spécificité $\frac{110}{110} = 100 \%$</td> </tr> </tbody> </table>	+	-	vrai positif 5	faux positif 0	faux négatif 0	vrai négatif 110	Sensibilité $\frac{5}{5} = 100 \%$		Spécificité $\frac{110}{110} = 100 \%$		<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">+</th> <th style="text-align: center;">-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>vrai positif 24</td> <td>faux positif 1</td> </tr> <tr> <td>faux négatif 0</td> <td>vrai négatif 134</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Sensibilité $\frac{24}{24} = 100 \%$</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Spécificité $\frac{134}{135} = 99 \%$</td> </tr> </tbody> </table>	+	-	vrai positif 24	faux positif 1	faux négatif 0	vrai négatif 134	Sensibilité $\frac{24}{24} = 100 \%$		Spécificité $\frac{134}{135} = 99 \%$		<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">+</th> <th style="text-align: center;">-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>vrai positif 35</td> <td>faux positif 2</td> </tr> <tr> <td>faux négatif 2</td> <td>vrai négatif 211</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Sensibilité $\frac{35}{37} = 95 \%$</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Spécificité $\frac{211}{213} = 99 \%$</td> </tr> </tbody> </table>	+	-	vrai positif 35	faux positif 2	faux négatif 2	vrai négatif 211	Sensibilité $\frac{35}{37} = 95 \%$		Spécificité $\frac{211}{213} = 99 \%$		<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">+</th> <th style="text-align: center;">-</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>vrai positif 18</td> <td>faux positif 0</td> </tr> <tr> <td>faux négatif 0</td> <td>vrai négatif 118</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Sensibilité $\frac{18}{18} = 100 \%$</td> </tr> <tr> <td colspan="2">Spécificité $\frac{118}{118} = 100 \%$</td> </tr> </tbody> </table>	+	-	vrai positif 18	faux positif 0	faux négatif 0	vrai négatif 118	Sensibilité $\frac{18}{18} = 100 \%$		Spécificité $\frac{118}{118} = 100 \%$	
+	-																																										
vrai positif 5	faux positif 0																																										
faux négatif 0	vrai négatif 110																																										
Sensibilité $\frac{5}{5} = 100 \%$																																											
Spécificité $\frac{110}{110} = 100 \%$																																											
+	-																																										
vrai positif 24	faux positif 1																																										
faux négatif 0	vrai négatif 134																																										
Sensibilité $\frac{24}{24} = 100 \%$																																											
Spécificité $\frac{134}{135} = 99 \%$																																											
+	-																																										
vrai positif 35	faux positif 2																																										
faux négatif 2	vrai négatif 211																																										
Sensibilité $\frac{35}{37} = 95 \%$																																											
Spécificité $\frac{211}{213} = 99 \%$																																											
+	-																																										
vrai positif 18	faux positif 0																																										
faux négatif 0	vrai négatif 118																																										
Sensibilité $\frac{18}{18} = 100 \%$																																											
Spécificité $\frac{118}{118} = 100 \%$																																											

11.3 Sensibilité et spécificité cliniques

Anti-SSA	<ul style="list-style-type: none"> - Marqueur diagnostic et critère de classification des Syndromes de Sjögren. Délectable par Enzyme Immuno-essai dans 96% des Syndromes de Sjögren primaires et 80% pour les syndromes secondaires, - Trouvé dans 25-60% des cas de Lupus Erythémateux systémique, - Trouvé dans 90-100 % des cas de Lupus Erythémateux cutanés par Enzyme Immuno-essai, - Trouvé dans 90% des cas de Syndrome du Lupus Néonatal - Trouvé plus rarement (5-15%) dans les arthrites rhumatoïdes et à 9% dans les sclérodermies systémiques.
Anti-SSB	<ul style="list-style-type: none"> - Marqueur diagnostic des Syndromes de Sjögren

	DéTECTABLE par Enzyme Immuno-essai dans 70% des Syndromes de Sjögren primaires et 50% pour les syndromes secondaires, - Trouvé dans 25% des cas de Lupus Erythémateux systémique, - Trouvé dans 80 % des cas de Lupus Erythémateux cutanés par Enzyme Immuno-essai, - 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-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-Ku	- Trouvé dans 23% des patients atteints d'hypertension pulmonaire. - Trouvé dans 1.8 à 23 % de patients atteints de Lupus Erythémateux 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-TIF1 gamma	- Hautement spécifique des dermatomyosites, trouvés chez 17-23% des patients atteints. - Marqueur diagnostique de cancer chez les patients atteints les plus âgés. - Associé aux dermatomyosites juvéniles (détectables dans 23-26% des cas). - Peut disparaître au cours du traitement.
Anti-SAE1/2	Trouvé dans 8 % des cas de Dermatomyosites adultes.
Anti-NXP2	- Hautement spécifique des myosites auto-immunes, pouvant atteindre une sensibilité de 28%. - Forte association avec les dermatomyosites juvéniles (détectés dans 33% des cas). - Associé à une bonne réponse au traitement par immunothérapie.
Anti-RNA-PIII	Spécificité diagnostique de 98-100% pour la Sclérodermie Systémique.
Anti-DFS70	- 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.
Anti-Sm/RNP	Sm : voir ci-dessus U1-RNP : - 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 Erythémateux Systémique, - Trouvé dans 10 % des cas de sclérodermies systémiques
Anti-Sm	Marqueur diagnostique (Critères ACR et SLICC) du Lupus Erythémateux Systémique Spécificité diagnostique de 99%, sensibilité de 5-40 % pour le Lupus Erythémateux Systémique

Référence : "Autoantibodies in Systemic Autoimmune Diseases, A Diagnostic Reference", volume 2, third edition – 2015, Karsten Conrad, Werner Schössler, Falk Hiepe, Marvin J. Fritzler.

12 LIMITES DU TEST

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 %.

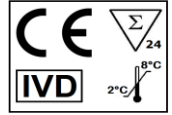
Substance interférente	Concentration max.	Concentration intermédiaire	Concentration min.	Différence <15%
Bilirubine	100 mg/dL	50 mg/dL	25 mg/dL	Oui
Hémoglobine	200 mg/dL	100 mg/dL	50 mg/dL	Oui
Cholestérol	224.3 mg/dL	112 mg/dL	56 mg/dL	Oui
Facteur rhumatoïde IgM	~500IU/ml	~300IU/ml	~100IU/ml	Oui

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

2. Il n'y a pas de réactivités croisées connues pour les biomarqueurs de ce kit.
3. Les résultats obtenus avec ce test de confirmation sont dépendants des performances intrinsèques du kit 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.



We Apply Science



IFU – Mode d'emploi, GR12D-24/p. 8 of 8

Version A
Dernière révision: 02/2020

