

MASTAZYME™ ENA Screen 7

MASTAZYME™ ENA Screen 7

REF 733023

12 x 8 Tests

UDI-DI 4250729700330

**Gebrauchsanweisung
/ Instructions for Use/
Notice d'utilisaton**

**Nur zur Verwendung durch
Fachpersonal / For professional use only/
Usage *in vitro* uniquement**



MASTAZYME™ ENA Screen 7

Utilisation

MASTAZYME™ ENA Screen 7 est un test immunoenzymatique, conçu pour la détection qualitative et le dépistage des auto-anticorps dirigés contre SS-A, SS-B, Sm, Sm/RNP, Scl-70, Jo-1 et centromère dans le sérum et le plasma humains, comme aide au diagnostic des maladies auto-immunes.

Le test est adapté à une utilisation manuelle ou automatisée sur des systèmes de processeurs EIA ouverts et est destiné à un usage professionnel de diagnostic *in vitro* uniquement. Tous les résultats des tests de laboratoire doivent être interprétés en conjonction avec d'autres données cliniques. Le jugement clinique et les tests complémentaires doivent être pris en compte.

Note importante pour l'utilisation des instructions de ce kit

Toute modification de la notice d'utilisation du kit concernant le test entraînera un changement du numéro de version figurant au bas de la dernière page. Toutes les modifications apportées seront identifiées sur une feuille séparée ajoutée à la notice d'utilisation pendant une période de trois mois à compter de la date du changement de version. Veuillez vous assurer que la dernière version de la notice d'utilisation est utilisée pour la procédure du test.

Principe du test

Le test ELISA peut être décrit en quatre étapes :

Incubation du sérum

Les anticorps spécifiques se lient aux antigènes sur la phase solide pour former un complexe immunitaire stable. Après une incubation de 30 minutes à température ambiante, les puits sont lavés pour éliminer tous les composants sériques non réactifs.

Incubation du conjugué

Le conjugué anti-IgG humaine et peroxydase de raifort est ajouté à tous les puits. Le conjugué se lie aux anticorps IgG présents sur l'antigène en phase solide pour former un complexe immunitaire sandwich stable. Après une incubation de 30 minutes à température ambiante, l'excès de conjugué est éliminé en lavant tous les puits avec un tampon de lavage.

Réaction du substrat et arrêt

Le substrat TMB est distribué dans chaque puits et la réaction enzyme peroxydase/substrat forme un chromogène bleu stable. La réaction et le développement de la couleur qui en résulte sont arrêtés après une incubation de 15 minutes à température ambiante en ajoutant du H₂SO₄ 0,25 M dans les puits. Le changement de pH entraîne également un changement de couleur du chromogène, qui passe du bleu au jaune.

Interprétation

L'intensité de la couleur est lue dans un lecteur de plaques de microtitration à 450 nm (longueur d'onde de référence recommandée pour les mesures bichromatiques : 600-690 nm). L'intensité de la couleur (DO) est directement proportionnelle à la concentration de l'anticorps spécifique dans l'échantillon du patient.

Les résultats peuvent être lus à partir d'une courbe d'étalonnage ou à l'aide d'un logiciel graphique électronique utilisant une courbe sigmoïdale à 4 paramètres.

Contenu du kit

1. **STRIPS** Barrettes de microtitration
12 barrettes individuelles dans un support, chacune avec 8 puits sécables recouverts d'un mélange d'antigènes : SS-A, SS-B, Sm, Sm/RNP, Scl-70, Jo-1 et Centromère.
2. **CONTROL+** Contrôle positif
1 x 1,5 ml de plasma humain stabilisé, prêt à l'emploi, peut être intégré dans la courbe d'étalonnage
3. **CONTROL-** Contrôle négatif
1 x 1,5 ml de plasma humain stabilisé, prêt à l'emploi, peut être intégré dans la courbe d'étalonnage
4. **CALCO** Calibrateur de seuil
1 x 1,5 ml de plasma humain stabilisé contenant des anticorps contre les antigènes énumérés ci-dessus, dilué dans un tampon, prêt à l'emploi.
5. **DIL** Diluant
2 x 60 ml de diluant d'échantillon, prêt à l'emploi.
6. **CONJ G** Enzym conjugué
1 x 12 ml d'IgG anti-humain de chèvre marqué à l'HRP, prêt à l'emploi.
7. **SUBS** TMB substrat
1 x 12 mL 3,3', 5,5'Tetramethylbenzidine, prêt à l'emploi.
8. **STOP** Solution d'arrêt
1 x 12 mL de H₂SO₄ (acide sulfurique) 0,25 M, prêt à l'emploi.
9. **WASH** **CONC** Tampon de lavage 10 x concentré
2 x 50 ml de solution tampon de lavage, à diluer au 1/10 avec de l'eau distillée ou désionisée avant utilisation ; le concentré doit être réchauffé à 37 °C pendant 15 minutes pour dissoudre les éventuels cristaux.
10. Notice d'utilisation

Autres abréviations

1. **RTU** prêt à l'emploi

Matériel nécessaire mais non fourni

1. Micropipettes de 5 µL, 100 µL et 500 µL ou pipette multicanaux (en option).
2. Lecteur de microplaques avec un filtre de 450 nm (filtre de référence 600-690 nm).
3. Laveur de plaques de microtitration (en cas de lavage manuel : flacon de lavage).
4. Tubes de réactifs pour la dilution du sérum.
5. Éprouvette de mesure.
6. Eau distillée ou désionisée.

Avertissement et précautions

1. Uniquement pour le diagnostic *in vitro* ! Ne pas ingérer ! Les mesures de sécurité du laboratoire doivent être respectées. Ne pas manger, boire ou fumer dans le laboratoire.
2. Les matériaux de contrôle/calibrage d'origine humaine fournis ont été testés pour les anticorps contre le VIH, le VHC et l'HBsAg et se sont révélés négatifs. Cependant, ils doivent être traités comme des matériaux potentiellement infectieux et capables de transmettre des maladies. Aucune garantie n'est donnée que les échantillons sont exempts d'infections ou de contamination microbienne.
3. Les déversements de sérum et de réactifs doivent être nettoyés à l'aide d'un désinfectant et les déchets doivent être éliminés de manière appropriée.
4. Tous les réactifs doivent être amenés à température ambiante (18 à 24 °C) avant de commencer la procédure de test.
5. Tous les réactifs doivent être soigneusement mélangés avant d'être pipetés. Il convient d'éviter toute agitation vigoureuse entraînant la formation de mousse.
6. Il est important de pipeter avec des intervalles de temps constants, afin que tous les puits de la plaque de microtitration aient les mêmes conditions de réaction.
7. Lors du pipetage des réactifs hors des flacons, il faut veiller à ce que les bouchons ne soient pas contaminés. En outre, il est fortement recommandé d'utiliser des pointes de pipette jetables afin d'éviter toute contamination croisée. Le contenu des flacons est généralement sensible à l'oxydation et ne doit donc être ouvert que pendant une courte période.
8. Aucun réactif provenant de lots de kits différents ne doit être utilisé et les réactifs ne doivent pas être mélangés les uns avec les autres.
9. Tous les réactifs doivent être utilisés dans les limites de la durée de conservation indiquée.
10. Conformément aux bonnes pratiques de laboratoire (BPL), l'exactitude et la précision de tous les équipements de laboratoire doivent être vérifiées régulièrement. Cela concerne par exemple les pipettes de microlitres et les instruments de lavage ou de lecture ELISA.
11. Certains réactifs sont irritants, en particulier la solution d'arrêt et le substrat TMB. Éviter tout contact avec la peau, les yeux et les muqueuses. En cas d'accident, rincer à l'eau et consulter un médecin. Nettoyer tout le matériel après utilisation pour éviter les incidents de contact secondaire.

Stockage et stabilité

Conserver tous les réactifs entre 2 et 8 °C.

La date de péremption de chaque réactif est imprimée sur les étiquettes individuelles. Ne pas utiliser de réactifs une fois la date de péremption dépassée.

Le tampon de lavage dilué est stable jusqu'à 4 semaines lorsqu'il est conservé à 2-8 °C. Veiller toutefois à ce qu'il soit à température ambiante avant le test.

Les kits doivent être utilisés dans les trois mois suivant leur ouverture.

Échantillon de matériel

Le sérum et le plasma peuvent être utilisés pour les tests. Les échantillons peuvent être conservés à une température comprise entre 2 et 8 °C pendant 3 jours au maximum, mais pour des périodes de conservation plus longues, ils doivent être aliquotés et conservés à -20 °C.

La congélation et la décongélation répétées sont contre-indiquées.

Les échantillons décongelés doivent être mélangés (vortex) avant d'être utilisés dans le test !

Les échantillons lipémiques, hémolytiques, ictériques ou contaminés par des bactéries peuvent donner des résultats faussement positifs ou faussement négatifs.

Procédure du test

1. Préparation des réactifs Échantillons

Laisser tous les composants du kit et les échantillons atteindre la température ambiante (RT, 18-24 °C) avant utilisation et bien mélanger.

Préparation de l'échantillon : Les sérums des patients doivent être pré-dilués au 1:101 dans le diluant de l'échantillon (par exemple, 5 µl de sérum + 500 µl de diluant de l'échantillon) avant le test.

Tampon de lavage : Dissoudre les cristaux éventuellement présents dans le flacon en le chauffant à 37 °C, puis bien mélanger. Diluer le tampon de lavage concentré au 1/10 avec de l'eau distillée (par exemple, 50 ml de tampon concentré + 450 ml d'eau distillée). Mélanger soigneusement.

- Suivre scrupuleusement les instructions. L'utilisateur est seul responsable de toute modification apportée à la procédure du test
- Les réactifs ne doivent pas être laissés à température ambiante plus longtemps que nécessaire.
- Une courbe d'étalonnage standard doit être établie pour chaque test afin d'obtenir des résultats quantitatifs.
- Conserver les barrettes de microtitration non utilisées dans le sachet en aluminium refermable fourni et les stocker au sec à 2-8 °C.

2. Étapes du test

Préparer un nombre suffisant de puits de microtitration pour les calibrateurs, les contrôles et les échantillons.

Remarque : d'autres conditions d'incubation sont possibles. Toutefois, en cas de modification de la procédure de test recommandée (par exemple, une température d'incubation de 37 °C au lieu de RT), la performance du test doit être vérifiée par l'utilisateur.

1. Introduire à la pipette 100 µl de chacun des échantillons dilués (1:101) et des calibrateurs et contrôles prêts à l'emploi dans les puits appropriés.
2. Incuber les bandes de test à température ambiante pendant 30 minutes.
3. Jeter le contenu des micropuits et laver 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage dilué.
4. Éliminer le tampon de lavage résiduel en tapotant doucement la plaque de microtitration sur une serviette en papier.
5. Incuber les bandes de test pendant 30 minutes. Éliminer ensuite le tampon de lavage résiduel en tapotant doucement la plaque de microtitration sur une serviette en papier.
6. Introduire à la pipette 100 µl de solution de conjugué enzymatique dans chaque puits.
7. Incuber les bandes de test pendant 30 minutes à température ambiante.
8. Effectuer l'étape de lavage conformément au point 3.
9. Introduire à la pipette 100 µl de substrat TMB dans chaque puits.
10. Incuber pendant 15 minutes dans l'obscurité (par exemple dans un tiroir) à température ambiante.
11. Ajouter 100 µl de solution d'arrêt à chaque puits.

10. Après un mélange soigneux, lire la densité optique à 450 nm. Blanc contre l'air. Une mesure bichromatique utilisant une longueur d'onde de référence de 600-690 nm est recommandée. Les concentrations peuvent être tracées à l'aide d'un logiciel graphique électronique ou à la main par rapport à la courbe d'étalonnage. Après l'ajout de la solution d'arrêt, la couleur développée est stable pendant au moins 30 minutes. Lire les densités optiques pendant cette période.

Interprétation des résultats

Qualitatif

Le calibrateur de seuil est utilisé pour l'interprétation qualitative des tests, en fonction des exigences de spécificité, afin d'inclure ou d'éliminer les résultats limites. Une interprétation quantitative n'est pas possible si l'on utilise uniquement le calibrateur de seuil.

Les valeurs de DO calculées pour les sérums des patients, comme indiqué ci-dessus, sont comparées à la valeur du calibrateur de seuil. Si la valeur de l'échantillon est supérieure, le résultat doit être considéré comme positif, si elle est inférieure, le résultat doit être considéré comme négatif.

Valeurs normales suggérées

Une étude sur les plages normales utilisant des échantillons de sérum provenant de donneurs de sang sains et de sérums de malades a permis d'établir les plages normales et élevées suivantes. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres fourchettes normales sur la base des résultats obtenus auprès de la population locale :

Négatif: OD-sample < OD calibrateur de seuil

Positif : OD-sample > OD calibrateur de seuil

Interprétation

Les résultats peuvent être influencés par plusieurs facteurs liés au patient. Le diagnostic clinique et le pronostic de la maladie ne doivent pas être basés sur un seul résultat de test. D'autres données de laboratoire et observations cliniques doivent être prises en considération avant qu'un diagnostic concluant puisse être établi.

En tant que test de dépistage, le test ELISA détecte les anticorps dirigés contre les antigènes SS-A (Ro), SS-B (La), Sm, Sm/RNP, Scl-70, Jo-1 ou centromère. Le test n'est pas adapté au typage des anticorps ni à l'identification de la spécificité des anticorps.

Caractéristiques de performance

Performance clinique

Pour démontrer la performance clinique, 127 échantillons cliniques positifs et 109 échantillons cliniques négatifs (sérum et plasma) ont été testés. Sur la base de ces échantillons, les paramètres de performance clinique suivants ont été calculés.

	Formule	Valeur
Sensibilité du diagnostique	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	93.5%
Spécificité diagnostique	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	95.8%
Valeur prédictive positive (VPP)	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	97.6%
Valeur prédictive négative (VPN)	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	88.7%
Efficience	$\frac{(TP + TN)}{total}$	94.3%
Rapport de vraisemblance positif (PLR)	$\frac{Sens}{(1 - Spec)}$	22.09
Rapport de vraisemblance négatif (NLR)	$\frac{(1 - Sens)}{Spec}$	0.07

(Abréviations : TP : Vrai positif, TN : Vrai négatif, FN : Faux négatif, FP : Faux positif)

Précision

La répétabilité a été démontrée sur un lot avec deux paramètres différents sur plusieurs dates de mesure.

La reproductibilité a été démontrée sur plusieurs lots à plusieurs dates de mesure.

Signalement d'incidents graves

Tous les incidents graves survenus en rapport avec le dispositif doivent être signalés au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Références

Vous trouverez les références à la fin de la notice d'utilisation.

Referenzen / References:

1. Autoantibodies, Eds. J.B. Peter, Y. Shoenfeld, 1996, Elsevier
2. Pathogenic and diagnostic relevance of autoantibodies, Eds. K.Conrad, R.-L. Humbel, M.Meurer, Y.Shoenfeld, E.M.Tan, 1998, Pabst Science Publishers
3. Autoantikörper, K.Conrad, 1998, Pabst Science Publishers
4. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists; Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA, Arch. Pathol. Lab. Med., 124 (1), 71-81 (2000).

**Mast Diagnostica GmbH,**

Feldstraße 20,
23858 Reinfeld,
Deutschland

Tel: +49 (0)4533 2007 0
Fax: +49 (0)4533 2007 68
email: mast@mast-diagnostica.de
Web: www.mast-group.com

Mast Group Ltd.

Mast House, Derby Road
Bootle, Merseyside, L20 1EA
United Kingdom

Tel: +44 (0)151 472 1444
Fax: +44 (0)151 944 1332
email: sales@mastgrp.com
Web: www.mast-group.com

Mast Diagnostic

12 rue Jean-Jacques Mention
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1
France

Tél: +33 (3) 22 80 80 67
Fax: +33 (3) 22 80 99 22
email: info@mast-diagnostic.fr
Web: www.mast-group.com

Verwendete Symbole gemäß DIN EN ISO**15223-1 Icons are used according to DIN EN ISO****15223-1****Symboles utilisés selon la norme DIN EN ISO****15223-1**