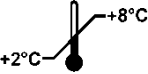


REF 46315 	ZENIT RA LKM-1		Distribué par 
MODE D'EMPLOI			 50
			

DESTINATION D'USAGE

Le test *ZENIT RA LKM-1 (Liver Kidney Microsomes type 1)* est un test immunologique par chimiluminescence (CLIA) pour la détermination quantitative, à l'aide de l'instrumentation dédiée *ZENIT RA Analyser*, des anticorps spécifiques de classe IgG dirigés contre les microcosmes hépatiques et rénaux de type 1 dans des échantillons de sérum ou de plasma humain (EDTA ou citrate de sodium).

Ce dosage est employé comme aide diagnostique dans l'évaluation de l'hépatite auto-immune (EAI ou AIH) de type 2.

ATTENTION : Aucune décision médicale ne peut se baser uniquement sur le résultat de ce test. Il s'agit d'évaluer l'ensemble de toutes les données cliniques et de laboratoire disponibles.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'hépatite auto-immune (AIH) est une inflammation chronique du foie dont la cause est inconnue et qui provoque la perte de la tolérance immunitaire à l'égard de l'hépatocyte¹. La maladie se manifeste par la présence d'altérations caractéristiques du point de vue histologique et par la présence, dans les analyses du sang, de gammaglobuline et d'auto-anticorps². Cette affection touche en particulier les femmes, à l'âge pédiatrique ou adulte³. Il s'agit d'un processus auto-immunitaire, qui peut donc être associé dans certains cas à d'autres états auto-immunitaires, comme la colite ulcéreuse⁴ et la maladie de Graves⁵.

L'hépatite auto-immune est classée selon les auto-anticorps, qui sont principalement représentés, pour le **type 1**, par les ANA (antinucléaires) et SMA (anti-muscle lisse) ; le **type 2** présente en revanche les anticorps LKM-1 (anti-microsomes hépatiques et rénaux de type 1) ; le **type 3** est caractérisé par les anticorps anti-SLA (antigènes solubles du foie) et anti-LP (antigènes hépatiques-pancréatiques).

La présence d'auto-anticorps anti-LKM a été décrite pour la première fois en 1973⁶. Il a ensuite été montré qu'ils représentent une famille hétérogène d'auto-anticorps et, en fonction de l'antigène cible, ils sont classés selon trois types dits anti-LKM 1, 2 et 3. Le cytochrome P4502D6 a été identifié comme l'auto-antigène des anti-LKM-1⁷. Par la suite, le cytochrome P4502C9 et l'UDP-glucuronosyltransférase ont été identifiés comme les cibles des anti-LKM-2 et des anti-LKM-3⁸ respectivement. Les anti-LKM-2 ont été associés aux hépatites médicamenteuses, tandis que les anti-LKM-1 ont été associés à l'AIH de **type 2** et représentent son marqueur caractéristique, généralement non associé à la présence d'ANA et/ou de l'AIH de **type 1**.

Toutefois, les anticorps anti-LKM-1 ne sont pas spécifiques à l'AIH de **type 2**, car ils apparaissent dans 5 à 10% des patients atteints d'hépatite chronique par HCV⁹, bien que les épitopes reconnus chez les patients atteints d'HCV soient différents de ceux des patients atteints d'AIH de **type 2**^{10,11}.

Les anti-LKM-1 apparaissent dans 90% environ des patients atteints d'AIH de **type 2**⁸ et peuvent être identifiés par les tests IFA à l'aide de tissus murins hépatiques et rénaux. Les anti-LKM-1 peuvent également être testés par des essais indirects en phase solide, en utilisant comme antigène la protéine recombinante CYP2D6 dont le degré de sensibilité et de spécificité est élevé^{12,13}.

PRINCIPE DE LA METHODE

Le kit *ZENIT RA LKM-1* pour la détermination quantitative des IgG spécifiques envers les microsomes hépatiques et rénaux emploie une méthode immunologique indirecte en deux phases basée sur le principe de la chimiluminescence.

L'antigène spécifique est utilisé pour recouvrir les particules magnétiques (phase solide) et la protéine G, en mesure de se lier aux IgG humains, est marquée à l'aide d'un dérivé de l'ester d'acridinium (conjugué).

Durant la première incubation, les anticorps spécifiques présents dans l'échantillon, les étalons ou les contrôles se lient à la phase solide.

Durant la seconde incubation, le conjugué réagit avec les anticorps anti-LKM-1 emprisonnés par la phase solide.

Après chaque incubation, le matériel non lié à la phase solide est éliminé par aspiration, suivie d'un lavage.

La quantité de conjugué marqué qui est restée liée à la phase solide est évaluée en activant la réaction de chimiluminescence et en mesurant le signal lumineux. Le signal qui est généré, exprimé en unités relatives de lumière (RLU, Relative Light Unit), indique la concentration des anticorps spécifiques présentes dans l'échantillon, les étalons et les contrôles.

AUTOMATISATION

L'instrument *ZENIT RA Analyser* exécute automatiquement toutes les opérations prévues par le protocole de dosage : dans le récipient de réaction, ajout des échantillons, étalons, contrôles, particules magnétiques, conjugué et solutions d'activation de la chimiluminescence ; séparation magnétique et lavage des particules ; mesurage de la lumière émise.

Le système calcule les résultats du dosage pour les échantillons et contrôles à l'aide de la courbe d'étalonnage mémorisée, puis imprime un rapport qui comprend toutes les informations relatives au dosage et au patient.

MATÉRIEL ET RÉACTIFS

Matériel et réactifs fournis

REAG	1	MP	2,5 mL
------	---	----	--------

Particules magnétiques recouvertes d'antigène recombinant LKM 1/cytochrome P450 2D6 dans un tampon phosphate contenant des protéines stabilisatrices, un tensioactif, du Pro-Clin 300 et de l'azoture de sodium (< 0,1 %) comme conservateurs.

REAG	2	DILCONJ	10 mL
------	---	---------	-------

Solution de dilution conjuguée : Tampon phosphate contenant des protéines stabilisatrices et de l'azoture de sodium (< 0,1%) comme conservateurs.

REAG	3	CONJ	4 mL
------	---	------	------

Protéine G conjuguée avec un dérivé de l'ester d'acridinium (conjugué), dans un tampon phosphate contenant un tensioactif et de l'azoture de sodium (< 0,1%) comme conservateur.

REAG	4	DIL	25 mL
------	---	-----	-------

Solution de dilution des échantillons : Tampon phosphate contenant de l'albumine sérique bovine, un tensioactif, un colorant bleu inerte, du Pro-Clin 300 et de la Gentamicine SO4 comme conservateurs.

REAG	5	CAL A	0,5 mL
------	---	-------	--------

Sérum humain à basse concentration d'anticorps anti-LKM-1 contenant de l'azoture de sodium (< 0,1%) comme conservateur.

REAG	6	CAL B	0,5 mL
------	---	-------	--------

Sérum humain à haute concentration d'anticorps anti-LKM-1 contenant de l'azoture de sodium (< 0,1%) comme conservateur.

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

Les réactifs 1, 2, 3 et 4 sont assemblés dans un seul ensemble qui constitue la cartouche des réactifs.

Les concentrations des étalons sont exprimées en AU/mL (Unités Arbitraires) et étalonnées selon un standard de référence interne. Les valeurs des concentrations, spécifiques par lot de produit, sont enregistrées dans le DATA DISK inclus dans le kit.

DATA DISK

Mini-DVD contenant les informations traitant de tous les produits de la gamme ZENIT RA (réactifs, étalons, sérums de contrôle) actualisées au dernier lot de production, à l'exclusion des produits périmés à la date à laquelle le nouveau DATA DISK a été compilé.

Il suffit de conserver le DATA DISK et le numéro de lot le plus élevé pour toujours disposer des dernières informations nécessaires au bon fonctionnement du système.

Matériel et réactifs nécessaires mais non fournis dans le kit

- | | |
|--|---------------|
| - ZENIT RA Analyser ⁽¹⁾ | Code N° 41400 |
| - ZENIT RA Cuvette Cube ⁽¹⁾
Boîte de 960 cuvettes | Code N° 41402 |
| - ZENIT RA System Liquid ⁽²⁾
1 bouteille de 5 litres de solution prête à l'emploi | Code N° 41409 |
| - ZENIT RA Wash Solution ⁽²⁾
1 bouteille de 10 litres de solution prête à l'emploi | Code N° 41407 |
| - ZENIT RA Trigger Set ⁽²⁾
1 flacon de 250 mL de Trigger A (solution de pré-activation)
1 flacon de 250 mL de Trigger B (solution d'activation) | Code N° 41403 |
| - ZENIT RA D-SORB Solution
Boîte de 2 bouteilles de 1 litre de solution prête à l'emploi | Code N° 41436 |
| - ZENIT RA Cartridge Checking System ⁽²⁾ | Code N° 41401 |
| - ZENIT RA Top Cap Set
300 bouchons supérieurs rouges pour la fermeture des récipients des étalons après la première utilisation. | Code N° 41566 |

¹⁾ Fabriqués par IDS France SAS, 42 rue Stéphane Mazeau, 21320 Pouilly en Auxois, France et distribués par A. Menarini Diagnostics Srl.

⁽²⁾ Fabriqués par IDS SA, 101-103 rue Ernest Solvay, 4000 Liège, BELGIQUE et distribués par A. Menarini Diagnostics Srl.

Autres réactifs recommandés

ZENIT RA LIVER CONTROL SET

Code N° 46317

3 ampoules de 1,0 mL de sérum humain négatif et 3 ampoules de 1,0 mL de sérum humain positif aux anticorps anti-LKM-1.

AVERTISSEMENTS ET PRECAUTIONS

Les réactifs fournis dans le kit *ZENIT RA LKM-1* sont uniquement pour usage diagnostique in vitro, et non pas pour un usage in vivo chez l'homme ou l'animal.

Ce produit doit être utilisé dans le respect scrupuleux des indications fournies dans le présent document et par du personnel professionnel.

Menarini ne peut être tenue pour responsable en cas de pertes ou de dommages dus à un usage non conforme aux indications fournies.

Mesures de sécurité

Ce produit contient du matériel d'origine animale. Il doit donc être manipulé comme s'il contenait des agents infectieux.

Ce produit contient des composants d'origine humaine. Toutes les unités de sérum ou de plasma utilisées pour la fabrication des réactifs de ce kit ont été analysées à l'aide de méthodes approuvées par la FDA. Elles ne réagissent pas à la présence de HBsAg, anti-HCV, anti-HIV1 et anti-HIV2.

Toutefois, aucune méthode d'analyse n'étant en mesure de garantir l'absence d'agents pathogènes, tout le matériel d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infecté et manipulé comme tel.

Si l'emballage est endommagé ou que des réactifs se déversent, veiller à décontaminer la zone affectée avec une solution diluée d'hypochlorite de sodium en portant des équipements de protection individuelle (blouse, gants, lunettes).

Éliminer les produits utilisés pour le nettoyage et les déchets issus du déversement, selon les normes nationales d'élimination des déchets potentiellement infectieux.

Certains réactifs comprennent de l'azoture de sodium comme conservateur. L'azoture de sodium pouvant réagir avec le plomb, le cuivre et le laiton plombé en formant des azotures explosifs dans les conduits, il est recommandé de ne pas éliminer les réactifs ou les déchets dans les égouts, mais d'appliquer les normes nationales en matière de mise au rebut des déchets potentiellement dangereux.

Précautions d'usage

Pour obtenir des résultats fiables, se tenir strictement aux instructions présentes et suivre scrupuleusement les indications reportées dans le manuel opératoire de l'instrument.

Les réactifs fournis dans le kit doivent être utilisés exclusivement à l'aide du système *ZENIT RA Analyser*.

Les composants de la cartouche de réactifs ne peuvent pas être séparés de celle-ci puis réassemblés.

Ne pas utiliser le kit au-delà de la date de péremption.

PREPARATION DES REACTIFS

Les réactifs fournis dans le kit sont tous prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

Conserver les réactifs fournis dans le kit à 2-8 °C, à la verticale et dans l'obscurité.

Dans ces conditions, la cartouche de réactifs et les étalons non ouverts sont stables jusqu'à la date de péremption.

Après l'ouverture, la cartouche de réactifs peut être utilisée pendant 60 jours si elle est conservée au réfrigérateur à une température comprise entre 2 et 8 °C ou dans la machine.

Après l'ouverture, les étalons peuvent être utilisés pendant 60 jours s'ils sont conservés au réfrigérateur à une température comprise entre 2 et 8°C et s'ils ne restent pas plus de 6 heures dans la machine pour chaque séance.

Ne pas congeler les réactifs et les étalons.

PREPARATION ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

Le dosage doit être effectué sur des échantillons humains de sérum et de plasma (EDTA ou citrate de sodium).

Il est déconseillé d'utiliser des échantillons lipémiques, hémolysés et troubles.

Si le dosage est effectué après plus de 8 heures, séparer le sérum ou le plasma du noyau, des globules rouges et des éprouvettes de séparation avec un gel.

Avant d'être analysés, les échantillons peuvent être conservés au réfrigérateur, à une température comprise entre 2 et 8°C, pendant 7 jours maximum.

Si le dosage est effectué après plus de 7 jours, congeler les échantillons pour les conserver (< - 20 °C).

Éviter de décongeler et recongeler de manière répétée.

PROCEDURE OPERATOIRE

Pour obtenir des prestations analytiques fiables, se tenir scrupuleusement aux instructions reportées dans le manuel opératoire de l'instrument.

Chargement des réactifs

Tous les réactifs fournis dans le kit sont prêts à l'emploi.

Avant d'introduire la cartouche de réactifs dans le système, agiter le récipient des particules magnétiques par rotation horizontale, de façon à favoriser la remise en suspension des particules. Durant cette opération, veiller à éviter la formation de mousse.

Placer la cartouche de réactifs dans la zone de l'instrument prévue à cet effet. Pour ce faire, utiliser le guide et agiter pendant 40 minutes au moins avant l'utilisation.

La mise en place de la cartouche de réactifs provoque également la lecture du code-barres d'identification. Si l'étiquette de la cartouche est endommagée ou si la lecture n'est pas effectuée, les données d'identification de la cartouche de réactifs peuvent être saisies manuellement.

L'instrument assure automatiquement l'agitation continue des particules magnétiques.

Si la cartouche de réactifs est retirée de l'instrument, la conserver à la verticale et dans l'obscurité à une température comprise entre 2 et 8°C.

Chargement des étalons

Les étalons ZENIT RA sont prêts à l'emploi. Laisser les étalons à température ambiante pendant 10 minutes et agiter délicatement le contenu, manuellement ou à l'aide d'un vortex, en évitant la formation de mousse.

Si les étalons sont utilisés pour la première fois, retirer le sceau de garantie et le bouchon blanc avant de les introduire dans l'instrument.

Si les étalons ont déjà été utilisés, le bouchon supérieur du récipient (bouchon rouge) ne portera plus le sceau de garantie. Retirer le bouchon de fermeture rouge avant de les introduire dans l'instrument.

Introduire les étalons dans la zone de l'instrument prévue pour les échantillons ; pour les identifier sur l'instrument, consulter le mode d'emploi de l'instrument. Si l'étiquette est endommagée ou si la lecture n'est pas effectuée, saisir manuellement les données des code-barres.

Les valeurs de la concentration d'anticorps LKM-1 dans les étalons sont enregistrées dans le DATA DISK et transférées automatiquement dans l'analyseur.

Au terme de la séance, les récipients contenant les étalons doivent être fermés à l'aide des bouchons prévus (bouchons rouges) et conservés à une température comprise entre 2 et 8°C jusqu'à leur prochaine utilisation.

Les étalons peuvent être utilisés quatre fois au maximum.

Chargement des contrôles

Introduire les contrôles dans la zone de l'instrument prévue à cet effet. Pour leur identification sur l'instrument, consulter le mode d'emploi de l'instrument. Si aucun code-barres n'est présent sur le contrôle ou si la lecture n'est pas effectuée, les données d'identification du contrôle peuvent être saisies manuellement. Si les contrôles Zenit RA sont utilisés, consulter les instructions pertinentes. Les valeurs de la concentration d'anticorps LKM-1 dans les contrôles Zenit RA sont enregistrés dans le DATA DISK et transférés automatiquement dans l'analyseur.

Pour chaque contrôle, sélectionner les paramètres requis.

Chargement des échantillons

Introduire les échantillons dans la zone de l'instrument prévue pour les échantillons ; pour les identifier sur l'instrument, consulter le mode d'emploi de l'instrument. Si aucun code-barres n'est présent sur l'échantillon ou si la lecture n'est pas effectuée, les données d'identification de l'échantillon peuvent être saisies manuellement.

Pour chaque échantillon, sélectionner les paramètres requis.

Étalonnage

L'instrument *ZENIT RA Analyser* utilise une courbe d'étalonnage mémorisée (master curve), générée par le producteur pour chaque lot de cartouches de réactifs.

Les paramètres des « master curve » et les valeurs des concentrations des étalons sont mémorisés dans le DATA DISK et transférés dans la base de données de l'instrument.

Les étalons A et B sont utilisés pour ré-étalonner les « master curve » en fonction de l'instrument utilisé et des réactifs placés dans la machine.

Pour effectuer le ré-étalonnage, analyser en triple les deux étalons, A et B, et les contrôler en simple. Les valeurs de concentration obtenues avec les contrôles permettent de valider le nouvel étalonnage.

Lorsque le ré-étalonnage de la « master curve » a été accepté et mémorisé, tous les échantillons suivants peuvent être analysés sans autre étalonnage, sauf dans les cas suivants :

- lorsqu'une cartouche de réactifs avec un nouveau lot est chargée sur l'instrument ;
- lorsque les valeurs des contrôles ne sont pas comprises dans la gamme d'acceptabilité ;
- lorsque la procédure de maintenance de l'instrument est effectuée ;
- lorsque la validité de la « master curve » ré-étalonnée est arrivée à échéance.

La validité de la « master curve » ré-étalonnée pour le kit *ZENIT RA LKM-1* est de 21 jours.

La gestion du ré-étalonnage est exécutée automatiquement par l'instrument.

Dosage

Appuyer sur le bouton de démarrage.

1. Le système aspire 80µL de solution de dilution pour échantillons, 40µL de particules magnétiques, 100µL de solution de dilution pour échantillons et 10µL d'échantillons, d'étalons ou de contrôle. Les solutions et la suspension aspirées sont dispensées dans la cuvette de réaction.
2. La cuvette de réaction est incubée dans le rotor à 37°C pendant 10 minutes.
3. Après cette phase d'incubation, les particules magnétiques sont séparées et lavées.
4. 40µL de conjugué et 160 µL de solution de dilution conjuguée sont dispensés dans la cuvette.
5. La cuvette de réaction est incubée dans le rotor à 37°C pendant 20 minutes.
6. Après cette dernière phase d'incubation, les particules magnétiques sont séparées et lavées, et la cuvette est transférée dans la chambre de lecture.
7. La quantité de conjugué lié à la phase solide, exprimée en RLU, est directement proportionnelle à la concentration d'anticorps LKM-1 présente dans l'échantillon.
8. Les réponses obtenues sont comparées à la courbe d'étalonnage et transformées en concentrations.

CONTROLE DE LA QUALITE

Pour assurer la validité du dosage, des sérums de contrôle à différentes concentrations (au moins un sérum négatif et un sérum positif) doivent être mesurés chaque jour si le dosage est effectué.

Si le laboratoire le demande, un usage plus fréquent ou un plus grand nombre de contrôles doivent être appliqués afin de vérifier les résultats du dosage. Suivre les procédures du contrôle de qualité établies.

Si les sérums de contrôle ZENIT RA sont utilisés, les valeurs moyennes attendues et les limites d'acceptabilité sont celles qui sont reportées dans le DATA DISK fourni dans l'emballage des contrôles.

Si d'autres sérums de contrôle sont utilisés, définir avant de les utiliser les valeurs attendues avec les réactifs et le système ZENIT RA.

Si la valeur des contrôles n'est pas comprise dans la gamme d'acceptabilité spécifiée, les résultats du dosage ne sont pas valables et les échantillons respectifs doivent être soumis à une nouvelle analyse.

Dans ce cas, appliquer une procédure de ré-étalonnage avant d'effectuer le nouveau dosage.

CALCUL ET INTERPRETATION DES RESULTATS

Calcul des résultats

La concentration d'anticorps anti-LKM-1 présents dans les échantillons examinés est calculée automatiquement par le système. Les valeurs peuvent être affichées à l'écran ou imprimées.

Les concentrations sont exprimées en AU/mL.

Le calcul de la concentration d'analyte dans l'échantillon est effectué à travers la lecture de la réponse obtenue pour chaque échantillon sur une courbe d'étalonnage élaborée par un système de « fitting » logistique à quatre paramètres (4PL, Y pondéré), corrigée périodiquement en fonction des réponses obtenues dans le dosage des étalons.

Pour obtenir de plus amples informations sur la manière dont le système calcule les résultats, consulter le manuel opératoire du système.

Interprétation des résultats

La gamme de mesurabilité du dosage ZENIT RA LKM-1 est la suivante : 0,0 – 300 AU/mL.

Les valeurs inférieures à 0,0 AU/mL sont les valeurs extrapolées ; le message « OMR- » et/ou ORA s'affiche et elles sont reportées avec une valeur « égale à 0,0 AU/mL ».

Les valeurs supérieures à 300 AU/mL affichent le message « OMR+ » et/ou ORA et peuvent être soumises à un nouvel essai après dilution.

Les résultats des échantillons peuvent être interprétés de la manière suivante :

(AU/mL)	Interprétation
< 15	L'échantillon doit être considéré négatif à la présence d'anticorps antiLKM-1
≥ 15	L'échantillon doit être considéré positif à la présence d'anticorps anti-LKM-1

Les valeurs reportées ci-dessus doivent uniquement être considérées comme des valeurs suggérées. Chaque laboratoire doit établir ses propres gammes de référence.

LIMITES DU DOSAGE

Aux fins du diagnostic, les résultats obtenus à l'aide du kit *ZENIT RA LKM-1* et du système *ZENIT RA Analyser* doivent être utilisés en association avec les autres données cliniques et de laboratoire dont le médecin dispose.

La contamination bactérienne des échantillons et l'inactivation à la chaleur peuvent influencer le résultat du dosage.

Les anticorps hétérophiles présents dans les échantillons de sérum humain peuvent réagir avec les réactifs à base d'immunoglobuline, provoquant des interférences dans les dosages immunologiques in vitro. Ces échantillons peuvent provoquer des valeurs anormales s'ils sont analysés à l'aide du kit *ZENIT RA LKM-1*.

VALEURS ATTENDUES

Les échantillons de 100 sujets de la routine normale de laboratoire ont été analysés, après avoir été sélectionnés de manière aléatoire afin de vérifier la présence d'anticorps anti-LKM-1.

Tous les échantillons analysés ont affiché des résultats négatifs, avec une valeur moyenne de 0,9 AU/mL et une déviation standard de 5,6 AU/mL.

La « Limit of Blank » (LoB = valeur la plus haute que l'on peut attendre dans une série d'échantillons ne contenant pas l'analyte) a été calculée à l'aide des résultats. La « Limit of Blank », définie comme 95° pour cent de la population négative, est apparu comme égale à 3,8 AU/mL avec le lot de réactifs n° 2.

SENSIBILITE ET SPECIFICITE DIAGNOSTIQUE (CLINIQUE)

Un total de 423 échantillons ont été analysés à l'aide du kit *ZENIT RA LKM-1*, dont 8 provenaient de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 2 (AIH-2), 58 de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 1 (AIH-1), 118 de patients présentant une cirrhose primitive biliaire (PBC), 40 une hépatite C (HCV), 19 une hépatite B (HBV), 20 une colangite sclérosante primitive (PSC), 160 échantillons théoriquement normaux, provenant de la routine du laboratoire.

Dans la population théoriquement négative étudiée, qui comprenait 58 échantillons de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 1 (AIH-1), 118 échantillons de patients atteints de cirrhose primitive biliaire (PBC), 40 d'hépatite C (HCV), 19 d'hépatite B (HBV), 20 de colangite sclérosante primitive (PSC) et 160 échantillons normaux, 7 échantillons étaient positifs et 408 négatifs.

- **Spécificité diagnostique : 98,3 % (408/415)**

Parmi les 7 échantillons « non négatifs », 4 appartenaient au groupe de patients présentant une AIH-1, 1 appartenait au groupe de patients atteints de HCV, 1 au groupe de patients atteints de HBV et 1 au groupe d'échantillons normaux.

Dans la population estimée positive étudiée, qui comprenait 8 échantillons de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 2 (AIH-2), 8 sont apparus positifs.

- **Sensibilité diagnostique : 100,0 % (8/8)**

Sur la base des résultats de la spécificité et de la sensibilité diagnostique, **l'accord diagnostique est de 98,3 % (416/423).**

PRESTATIONS

Avertissement : les données présentées ne représentent pas les spécifications de fonctionnement du kit, mais elles constituent une preuve expérimentale du fonctionnement du kit dans ces spécifications, selon la manière prévue par le producteur.

Précision et reproductibilité

La précision et la reproductibilité du kit *ZENIT RA LKM-1* ont été évaluées à l'aide d'un protocole basé sur les directives du document EP5-A2 du Clinical and Laboratory Standards (CLSI).

La **précision** a été calculée en analysant les résultats de 20 réplicats de quatre sérums (un négatif et trois positifs à des concentrations différentes d'anticorps LKM-1) effectuées sur deux lots différents de réactifs durant la même séance expérimentale.

La concentration du sérum anti-LKM-1 négatif (N1) est toujours de 0,0 AU/mL avec le lot de réactifs n° 1 et comprise entre 0 et 0,7 AU/mL avec le lot n° 2.

Le tableau indique les résultats obtenus à partir des 3 sérums positifs.

Échantillon	Réactifs Lot n°	Concentration moyenne (AU/mL)	SD	CV %
1	1	65,6	2,65	4,0
	2	61,8	2,47	4,0
2	1	163,0	8,88	5,4
	2	162,0	6,00	3,7
3	1	210,7	10,73	5,1
	2	198,9	11,51	5,8

La **reproductibilité** a été calculée en analysant les résultats de la détermination de cinq sérums (un négatif et quatre positifs, avec différentes concentrations d'anti-LKM-1) effectuée en simple, en 30 séances, avec deux lots de réactifs différents.

La concentration du sérum anti-LKM-1 négatif (N1) était toujours comprise entre 0,0 et 0,9 AU/mL.

Le tableau indique les résultats obtenus à partir des 4 sérums positifs.

Échantillon	Concentration moyenne (AU/mL)	SD	CV %
1	58,9	3,16	5,4
2	149,2	8,89	6,0
3	192,8	13,62	7,1
4	86,8	4,47	5,1

Sensibilité analytique

La sensibilité analytique du kit *ZENIT RA LKM-1* a été évaluée à l'aide de deux protocoles basés sur les directives du document EP17-A du Clinical and Laboratory Standards (CLSI).

Dans un cas exprimé comme la **limite de détection** (*Limit of Detection – LoD* : c'est-à-dire la plus petite quantité d'analyte que la méthode peut mesurer) la formule de calcul $LoD = LoB + C\beta SDs$ (où LoB est la valeur de la « Limit of Blank », SDs la déviation standard estimée de la répartition de l'échantillon à basse concentration et $C\beta$ est dérivé de 95° pour cent de la distribution standard gaussienne) a été appliquée.

3 échantillons à basse concentration d'analyte ont été utilisés, déterminés en simple à partir d'un lot de réactifs lors de 15 expériences différentes.

La limite de détection du kit ZENIT RA LKM-1 a été établie à 3,6 AU/mL.

L'autre protocole prévoit le calcul de la **Concentration minimum mesurable** ou MDC (*Minimum Detectable Concentration*) : 20 réplicats de la solution du Standard 0 AU/mL de la courbe Master ont été utilisés. La moyenne et la déviation standard (DS) sur un lot du kit ont ainsi été élaborées. La valeur de RLU relative à la moyenne + 2,6 DS a été appliquée sur la courbe afin d'obtenir la concentration relative.

La sensibilité analytique exprimée comme la Concentration minimum mesurable est de 0,7 AU/mL.

Les valeurs de la limite de détection, ainsi que les considérations de caractère clinique et les résultats des comparaisons avec des méthodes de référence, ont contribué à la définition de la valeur de cut-off.

Spécificité analytique : Interférences

Une étude basée sur les directives du document EP7-A2 du CLSI a montré que les prestations du dosage ne sont pas influencées par la présence dans l'échantillon de produits potentiellement interférents énoncées dans le tableau suivant, jusqu'à la concentration expérimentée.

Produits potentiellement interférents	Concentration maximum expérimentée
Bilirubine libre	20 mg/dL
Bilirubine conjuguée	20 mg/dL
Hémoglobine	1000 mg/dL
Acides gras	3000 mg/dL

Il est en tout cas déconseillé d'utiliser des échantillons lipémiques, hémolysés ou troubles.

Spécificité analytique : Réactions croisées

Pour évaluer les réactions croisées potentielles de l'antigène utilisé aux fins de la sensibilisation des microparticules, une étude a été conduite sur 40 échantillons, dont tous présentaient des niveaux élevés d'autres auto-anticorps et tous étaient négatifs à l'IgG anti-LKM.

Les échantillons utilisés étaient répartis comme suit : SS-A (2), SS-B (2), U1-snRNP (2), Jo-1 (2), Scl-70 (2), Cenp B (2), Sm (2), PR3 (2), MPO (2), β_2 -GLI/CL (2), Gliadine (2), t-TG (2), CCP (2), GBM (2), dsDNA (2), TG (3), TPO (3) et facteur rhumatoïde (RF) (4).

L'étude n'a mis en valeur aucune réaction croisée significative de l'antigène en phase solide avec les autres auto-anticorps.

Effet de saturation et doses élevées

Certaines méthodes immunologiques employées pour la détermination d'échantillons contenant l'analyte à des concentrations extrêmement élevées peuvent fournir des niveaux apparents d'analyte sous-estimés (effet hook).

La méthode employée dans le kit *ZENIT RA LKM-1* étant une méthode à deux incubations, elle ne subit pas cet effet.

Un échantillon d'une concentration extrêmement élevée (supérieure à la gamme de mesure) d'anticorps anti-LKM-1 a confirmé l'absence d'effet « hook » jusqu'à une concentration de 22000 AU/mL.

Sensibilité et spécificités relatives

La présence d'anticorps LKM-1 a été déterminée en utilisant le kit *ZENIT RA LKM-1* et une méthode de dosage ELISA disponible dans le commerce sur 343 échantillons : 8 échantillons provenaient de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 2 (AIH-2), 118 de patients présentant une cirrhose biliaire primitive (PBC), 58 de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 1 (AIH-1), 40 d'hépatite C (HCV), 19 d'hépatite B (HBV), 20 de colangite sclérosante primitive (PSC), 80 échantillons étaient théoriquement normaux issus de la routine de laboratoire.

8 échantillons ont fourni des résultats incohérents entre le dosage ZENIT RA et le dosage ELISA disponible dans le commerce.

La **correspondance relative** a donc atteint un niveau de 97,7 % (Intervalle de confiance de 95% : 95,3-98,9 %) (335/343).

La **sensibilité relative** a atteint un niveau de 100,0 % (Intervalle de confiance de 95% : 51,7–98,5 %) (6/6).

La **spécificité relative** a atteint un niveau de 97,6 % (Intervalle de confiance de 95% : 95,2– 98,9%) (329/337).

BIBLIOGRAPHIE

1. Strassburg CP. Autoimmune hepatitis. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2010. 24(5): 667-82.
2. Kachar R. and Fallon M. Diagnostic criteria for autoimmune hepatitis : what is the gold standard ? Hepatology, 2010. 51(1): 350-1
3. Ngu JH et al. Population-based epidemiology study of autoimmune disease : a disease of older women ? J Gastroenterol Hepatol, 2010. 25(10): 1681-6.
4. Navaneethan U. and Shen B. Hepatopancreasbiliary manifestations and complications associated with inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis, 2010. 16(9) : 1598-619.
5. Nakamura H. et al. Prevalence of interrelated autoantibodies in thyroid diseases and autoimmune disorders. J Endocrinol Invest, 2008. 31(10) : 861-5.
6. Rizzetto M, Swana G, Doniach D. Microsomal antibodies in active chronic hepatitis and other disorders. Clin Exp Immunol 1973; 15: 331-44.
7. Gueguen M, Meunier-Rotival M, Bernard O, Alvarez F. Anti-liver kidney microsome antibody recognizes a cytochrome P450 from IID subfamily. J Exp Med 1988; 168: 801-6.

8. Philipp T, Durazzo M, Trautwein C, Alex B, Straub P, Lamb JG, et al. Recognition of uridine diphosphate glucuronisyl transferases by LKM-3 antibodies in chronic hepatitis D. Lancet 1994; 344:578-81.
9. Lenzi M, Ballardini G, Fusconi M, Cassani F, Selleri L, Volta U, et al. Type 2 autoimmune hepatitis and hepatitis C virus infection. Lancet 1990; 335:258-9.
10. Declos-Valee JC, Hajaoui O, Yamamoto AM, Jacqz-Aigrin E and Alvarez F. Conformational epitopes on CYP2D6 are recognized by Liver/kidney microsomal antibodies. Gastroenterology 108: 467-470,1995.
11. Dalekos GN, Wedemeyer H, Obermayer-Straub P, Kayser A, Barut A, Frank H and Manns MP. Epitope mapping of cytochrome P450 2D6 autoantigen in patients with chronic hepatitis C during alpha-interferon treatment. J. Hepatol. 30(3): 366-375,1999.
12. Miyakawa H, Kikazawa E, Abe K, Kikuchi K, Fujikawa H, Matsushita M, Kawaguchi N, Morizane T, Ohya K, Kako M. Detection of anti-LKM-1(anti-CYP2D6) by enzyme-linked immunosorbent assay in adult patients with chronic liver diseases. Autoimmunity, 1999;30(2):107-14
13. Kekar N, Ma Y, Davies ET, Cheeseman P, Mieli-Vergani G, Vergani D. Detection of liver kidney microsomal type 1 antibody using molecularly based immunoassay. Journal of Clinical Pathology 2002;55(12): 906-909.

**TECHNOGENETICS S.r.l.**

Via Vanvitelli, 4
20129 – Milan – Italie

Site opérationnel : Via della Filanda, 26
26900 – Lodi – Italie

FRANCE**Distribué par**

A. Menarini Diagnostics France S.A.R.L.
3-5, Rue du Jura - BP 70511- 94633 Rungis Cedex
Tel. +33 1 56 34 69 10 - Fax +33 1 56 34 69 11
www.menarinidiagnostics.fr

BELGIQUE et LUXEMBOURG**Distribué par**

Menarini Diagnostics Benelux S.A./N.V.
Belgicastraat, 4 - 1930 Zaventem
Tel. +32 2 72 14 545 - Fax +32 2 72 09 292
www.menarinidiagnostics.be