

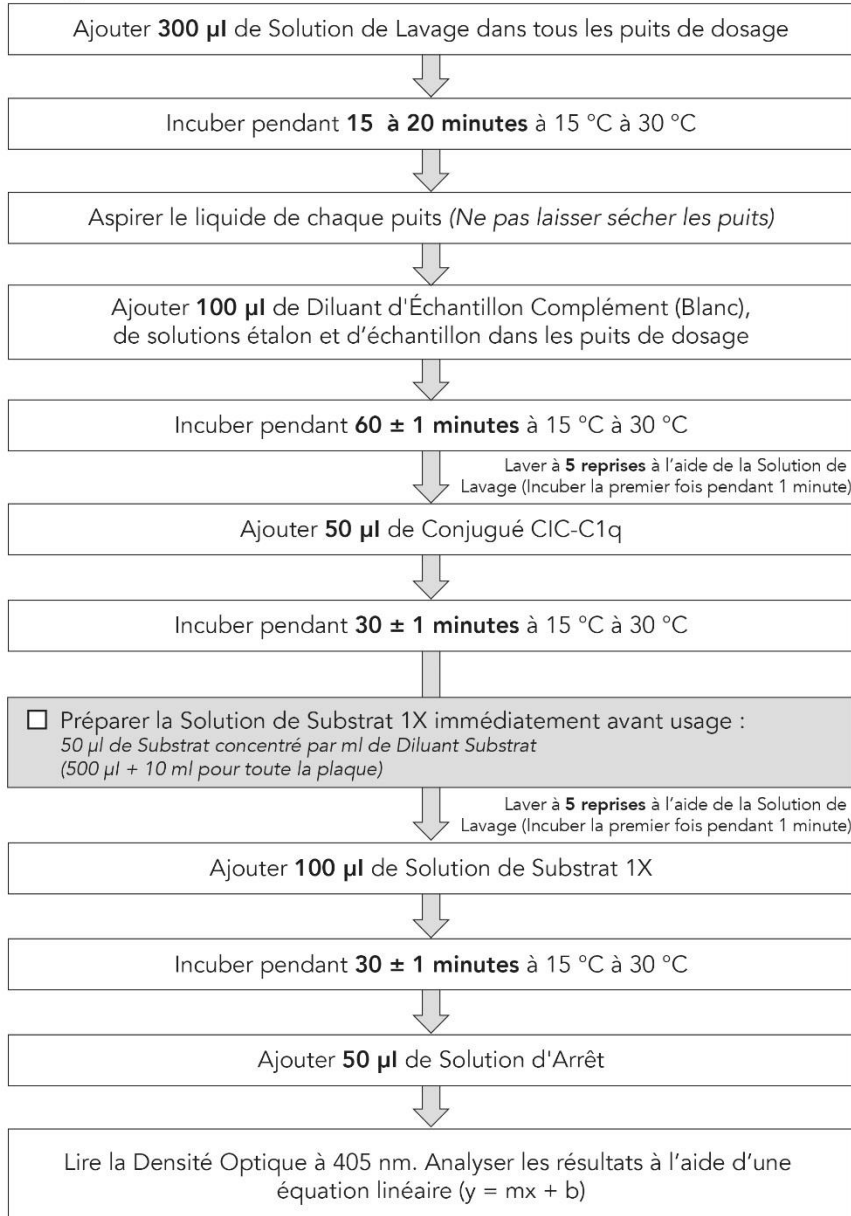
Pour la détection de complexes immunes dans le sérum ou le plasma humains.

RÉSUMÉ

Préparation des réactifs et des échantillons

- Diluer la Solution Concentrée de Lavage 1 : 20 avec de l'eau distillée
- Reconstituer chaque Solution étalon à l'aide de 2,0 ml de Solution de Réhydratation, bien mélanger et attendre 15 minutes (*Stable pendant 30 jours*)
- Diluer les échantillons au 1 : 50 à l'aide du Diluant d'Echantillon de Complément (10 µl + 490 µl)

Dosage





APPLICATION

Le dosage immunoenzymatique CIC-C1q de MicroVue est conçu pour détecter les complexes immuns présents dans le sérum ou le plasma humains.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION

L'importance des complexes immuns circulants (CIC) et leur lien avec diverses maladies font l'objet de recherches depuis plusieurs années. La formation de complexes immuns est un processus de protection continu, généralement bénin, effectué par un système immunitaire fonctionnant normalement. Chez un hôte normal, les CIC sont retirés de la circulation sous l'effet de plusieurs processus biochimiques, enzymatiques et cellulaires complexes. L'activation du complément de la voie classique est un élément clé de l'élimination de nombreux CIC.

Cependant, dans le cas de certaines maladies encore mal connues, les complexes immuns peuvent être à l'origine de lésions de certains organes et tissus liés au complément. Cette activation du complément peut entraîner une série d'événements potentiellement destructeurs au niveau de l'hôte, notamment la production d'anaphylatoxine, la lyse de cellules, la stimulation de leucocytes, et l'activation de macrophages et d'autres cellules.¹ Lorsque les complexes immuns viennent se fixer sur les parois vasculaires ou les membranes cellulaires, une destruction de tissu sain peut se produire, comme dans certains cas de glomérulonéphrite.

Certaines caractéristiques des CIC influent sur leur pathogénicité potentielle. Les éléments les plus importants sont: (1) la nature, la taille et la concentration de l'antigène ; (2) la nature, la taille et la concentration de l'anticorps ; et, (3) le taux de formation et de clairance des complexes immuns.^{1,2} Les complexes immuns circulants ont été mesurés dans différentes conditions : infections, troubles auto-immuns, traumatismes, et maladies néoplasiques prolifératives. Les études actuelles suggèrent que la détermination des CIC peut être importante dans l'évaluation de certaines maladies et, parfois, dans le contrôle de l'efficacité du traitement. C'est particulièrement vrai dans les cas de lupus érythémateux disséminé (LED) et pour certaines formes d'arthrite rhumatoïde (AR).^{3,4} Généralement, le premier stade de la maladie lié à la formation de complexes immuns est une atteinte sérique, décrite au début du XX^{ème} siècle par von Pirquet. Depuis cette époque, des taux élevés de CIC ont été constatés dans les cas de maladies auto-immunes (lupus érythémateux disséminé, syndrome lié au lupus érythémateux disséminé, arthrite rhumatoïde), glomérulonéphrite, maladies néoplasiques (maladie de Hodgkin, leucémie), infections bactériennes (endocardite bactérienne subaiguë (EBS), lèpre), infections parasitaires (paludisme, bilharziose) et infections virales (hépatite, mononucléose).

Plus de 40 techniques d'analyse de détection ou de quantification des CIC ont été mises au point. Ces tests, qui comprennent notamment le test utilisant les cellules Raji, le test de déviation du C1q, le test de la congglutinine, les procédés de fixation du C1q en phase fluide, le test du facteur rhumatoïde, le test de la précipitation en PEG, et le dosage du C1q en phase solide ont été décrits.^{1,5} Étant donné que la taille et les propriétés physiochimiques des CIC varient considérablement, aucun de ces dosages n'a été accepté comme référence. Une étude collaborative menée sous l'égide de l'Organisation Mondiale de la Santé en 1978 a montré qu'aucune de ces méthodes n'était adaptée à l'ensemble des stades de la maladie suspectée, et a recommandé de recourir à au moins deux méthodes différentes de dosage pour détecter et quantifier les CIC.

PRINCIPE DU DOSAGE

Le dosage immunoenzymatique CIC-C1q de MicroVue se base sur la liaison des CIC du complément à la protéine C1q humaine purifiée et immobilisée.

Lors de la première étape, les solutions étalon et les échantillons plasmatiques ou sériques dilués dans le Diluant pour Echantillon de Complément sont ajoutés dans les puits enduits de C1q, et sont incubés.

Pendant cette incubation, les complexes immuns se lient au C1q se fixent sur les puits enduits de C1q. Afin de confirmer la positivité du résultat, on peut diluer l'échantillon à l'aide de Diluant de Confirmation, qui contient une forte concentration en sel connue pour inhiber la liaison des CIC au C1q,^{6,7} l'ajouter dans les puits et l'incuber. Les protéines sériques non liées sont éliminées au cours d'un cycle de lavage.

Lors de la deuxième étape, un conjugué formé de peroxidase de raifort (HRP) et d'IgG de chèvre anti-humain est ajouté dans chacun des puits de dosage. Pendant cette incubation, le conjugué se lie aux complexes immuns qui sont désormais liés aux puits enduits de C1q. Le conjugué non lié est éliminé au cours d'un cycle de lavage.

Au cours de la troisième étape, un substrat enzymatique est ajouté dans chaque puits. La réaction du conjugué anticorps-HRP avec le substrat chromogénique se traduit par une coloration verte. Après incubation, on ajoute un réactif pour arrêter le développement de la coloration.

L'absorbance des solutions étalon et des échantillons à doser (valeurs A_{405}) est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. L'intensité de la coloration verte est proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-IgG des CIC se liant au C1q en phase solide. On obtient une courbe étalon en reportant les valeurs A_{405} obtenues pour chaque solution étalon en fonction de sa concentration. On détermine la concentration des complexes immuns présents dans l'échantillon à analyser en se référant à la courbe étalon. Les résultats sont exprimés en équivalents gammaglobuline humaine agrégée par la chaleur par ml ($\mu\text{g Eq/ml}$).

RÉACTIFS ET MATÉRIELS FOURNIS

Le kit de dosage immunoenzymatique CIC-C1q contient:

- | | | | |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------|
| A | Des solutions étalon de CIC-C1q | Réf. A9503-A9505 | 2 flacons de 2 ml chacun |
| B | (lyophilisés) Après reconstitution, chacun d'entre eux contient une quantité connue de | | |
| C | gammaglobulines humaines agrégées par la chaleur dans du PBS, et 2,5 % de stabilisants. | | |
| 1 | Plaque de microdosage | Réf. A9500 | 12 bandes |
| | Plaque de 96 puits avec portoir et support composée de bandes de huit puits enduits de protéine C1q humaine purifiée dans une poche d'aluminium refermable. | | |
| 2 | Solution d'Arrêt | Réf. A3673 | 6 ml |
| | Contient 250 mM d'acide oxalique. | | |
| 3 | Solution de Lavage concentrée 20X | Réf. A9957 | 2 flacons de 50 ml chacun |
| | Chaque flacon contient une solution saline de tampon phosphate (PBS), 1,0 % de Tween-20®, et 0,035 % ProClin® 300. | | |
| 4 | Diluant pour Echantillon de Complément | Réf. A3670 | 50 ml |
| | Contient du PBS, 2,5 % de stabilisants, 0,035 % de ProClin 300. | | |
| 5 | Diluant Substrat | Réf. A3672 | 25 ml |
| | Contient 0,1 M de tampon citrate et 0,05 % d' H_2O_2 . | | |
| 6 | Substrat concentré | Réf. A3671 | 1,5 ml |
| | Contient 0,7 % de 2,2'-Azino-di (3-ethylbenzthiazoline-6-acide sulfonique), et du sel de diammonium. | | |
| 7 | Conjugué de CIC-C1q | Réf. A9506 | 2 flacons de 3ml chacun |
| | Conjugué de peroxydase et d'IgG de chèvre anti-humain en suspension dans un tampon stabilisant pour HRP. | | |
| 8 | Solution de Réhydratation | Réf. A3675 | 25 ml |
| | Contient 0,035 % de ProClin 300. | | |
| 9 | Diluant de Confirmation | Réf. A9511 | 2 flacons de 10 ml chacun |
| | Contient du PBS, 2,5 % de stabilisants, 1,2 M de NaCl, 0,035 % de ProClin 300. | | |
| | Tween-20® est une marque d'ICI Americas Inc. | | |
| | ProClin® est une marque de Rohm and Haas Company. | | |

MATÉRIELS NÉCESSAIRES MAIS NON FOURNIS

- Minuterie (60 minutes)
- Calculateur, ou tout autre équipement informatique permettant de valider l'essai
- Plaques de microdosage et/ou tubes à essais et supports de tests propres et non utilisés
- Récipient pour la dilution du tampon de lavage
- Flaçon de lavage ou tout autre système de lavage adapté aux dosages immunologiques
- Pipettes multi-canaux réglables (8 ou 12 canaux) ou micropipettes automatisées (en option)
- Pipettes propres de 1 ml, 5 ml, et 10 ml
- Embouts de micropipettes et de pipettes
- Lecteur de plaque capable de mesurer la densité optique A_{405} entre 0,0 et 2,0
- Eau déionisée ou distillée

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Pour utilisation diagnostique *in vitro*.
- Traiter les échantillons comme du matériel potentiellement contaminant. Suivre les précautions standard lors de la manipulation du contenu de ce kit et de tous les échantillons de patients.
- Éliminer les récipients et leur contenu inutilisé conformément aux dispositions réglementaires nationales et locales.
- Utiliser les réactifs d'un même kit avant la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Porter un vêtement, des gants et un appareil de protection des yeux /du visage appropriés lors de la manipulation du contenu de ce trousseau.
- Stocker les réactifs de dosage comme indiqué.
- Ne pas utiliser les plaques enduites si la poche est percée.
- Tester chaque échantillon en double.
- Le ProClin 300 est utilisé comme conservateur. Tout contact ou toute ingestion accidentelle de tampons ou de réactifs contenant du Proclin peut provoquer une irritation de la peau, des yeux ou de la bouche. Le respect des bonnes pratiques de laboratoire permet de réduire l'exposition. Consulter un médecin en cas d'observation de ces symptômes.
- L'utilisation de pipettes multi-canaux ou de robots pipetteurs est recommandée pour assurer la distribution rapide des réactifs.
- Pour une mesure exacte des échantillons, ajouter les échantillons et les solutions étalon avec précision. Pipetter avec soin, en utilisant uniquement un équipement étalonné.
- Il est essentiel de prélever et de conserver les échantillons avec soin pour obtenir des résultats corrects.
- Éviter toute contamination microbienne ou croisée des échantillons, des réactifs et du matériel. En cas de contamination, des résultats inexacts pourraient être obtenus.
- Ne pas réutiliser un puits de microdosage pour un deuxième test.
- Décontaminer tous les échantillons, réactifs et matériels en les trempant pendant au moins 30 minutes dans une solution à 1/10 d'eau de javel (hypochlorite de sodium) ou en les passant à l'autoclave à 121 °C pendant 30 minutes à 103 kPa (15 psi).
- Le fait de ne pas appliquer les durées et températures d'incubation indiquées dans le mode d'emploi du dosage est susceptible de conduire à des résultats erronés.
- Le Substrat concentré est photosensible. Éviter toute exposition prolongée à la lumière directe ou indirecte. Conserver les réactifs dans l'obscurité lorsqu'ils ne sont pas utilisés.
- Ne pas laisser sécher les puits de microdosage une fois que le dosage a commencé.
- Ne pas érafler ni toucher le fond des puits en ajoutant ou en aspirant des liquides.
- Des échantillons inactivés par la chaleur, hyperlipémiques ou contaminés, risquent de conduire à des résultats inexacts.

- Afin d'éviter la production d'aérosols pendant le lavage, utiliser un appareil pour aspirer le liquide de lavage directement dans un flacon contenant de l'eau de Javel.
- Ce dosage peut être effectué avec n'importe quelle méthode de lavage validée.
- Lavez-vous soigneusement les mains après manipulation.
- Pour en savoir plus sur les symboles de danger, la sécurité, la manipulation et l'élimination des composants de ce kit, veuillez vous référer à la Fiche de données de sécurité (FDS) que vous trouverez sur quidel.com.

CONSERVATION

Conserver les kits non ouverts entre 2 °C et 8 °C. Après ouverture du kit, la Solution de Lavage concentrée 20X et la Solution de Réhydratation peuvent être conservées entre 2 °C et 30 °C.

Après avoir choisi les réactifs ou le matériel à utiliser pour le dosage, replacer immédiatement les réactifs non utilisés à une température de conservation appropriée. Amener les réactifs et le matériel à température ambiante (entre 15 °C à 30 °C) avant utilisation.

SIGNES D'INSTABILITÉ ET DE DÉTÉRIORATION DES RÉACTIFS

La couleur du Substrat concentré peut varier de transparent à vert pâle ou vert foncé. Cela n'altère pas ses performances. Cependant, la solution de Substrat qui vient d'être préparée doit être transparente ou vert pâle. Une coloration vert foncé indique une détérioration de cette solution ; celle-ci doit alors être jetée et une nouvelle solution de Substrat doit être préparée dans un récipient en verre propre.

Toute turbidité ou décoloration de la Solution de Lavage indique une détérioration du réactif. En ce cas, il faut éliminer la solution.

PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

Manipuler et éliminer tous les échantillons en suivant les précautions standard.

Le dosage nécessite au moins 10 µl de sérum ou de plasma EDTA. Tous les échantillons doivent être prélevés en condition d'asepsie et préparés suivant les techniques standard pour les tests en laboratoire d'analyse.⁹ Ne pas inactiver les échantillons par la chaleur. Avant le test, toute particule doit être éliminée des échantillons par centrifugation à faible vitesse.

Les échantillons peuvent être conservés entre 2 °C et 8 °C pendant 7 jours maximum. Si les échantillons sont conservés pendant plus longtemps, il faut les congeler à -20 °C minimum, dans un congélateur dont le dégivrage n'est pas automatique.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Se référer au Tableau 1 pour connaître les quantités de Solution de Substrat et le nombre de bandes nécessaires pour un nombre donné de tests. Après avoir choisi les réactifs et le matériel nécessaire, replacer immédiatement les produits inutilisés aux températures de conservation appropriées (voir la partie *CONSERVATION*). **Amener tous les réactifs et matériel de dosage à température ambiante (15 °C à 30 °C) avant utilisation.**

1. Solution de Lavage.

Mélanger la Solution de Lavage Concentrée 20X en retournant plusieurs fois le flacon. Si la Solution de Lavage Concentrée 20X a été conservée entre 2 °C et 8 °C, il est possible que des cristaux se soient formés. Pour dissoudre les cristaux, réchauffer le flacon au bain-marie entre 37 °C et 50 °C jusqu'à dissolution complète. Bien mélanger. Préparer la Solution de Lavage pour les puits de microdosage en diluant tout le contenu d'un flacon de Solution de Lavage Concentrée 20X avec de l'eau distillée ou déionisée jusqu'à obtention d'un litre de produit. Bien mélanger. La Solution de Lavage reste stable pendant 30 jours si elle est conservée dans un récipient propre entre 2 °C et 8 °C. Si le réactif devient trouble ou se décolore, il doit être éliminé.

2. Sélection des bandes de microdosage.

Retirer le support pour bandes de la plaque assemblée. Déterminer le nombre de bandes requis pour le dosage en consultant le Tableau 1. Remettre les bandes non utilisées dans la poche de conservation ; la refermer et la stocker entre 2 °C et 8 °C. Fixer solidement les bandes utilisées pour le dosage en remplaçant le support de bande sur la plaque de microdosage.

3. Reconstitution des Solutions étalon de CIC-C1q.

Ajouter 2,0 ml de Solution de Réhydratation dans chaque flacon de solution étalon (A-C). Attendre au moins 15 minutes, puis bien mélanger. Éviter de faire de la mousse ou des bulles en mélangeant. Les solutions étalon reconstituées sont stables pendant 30 jours lorsqu'elles sont conservées entre 2 °C et 8 °C.

4. Dilution des échantillon.

Avertissement: Manipuler tous les échantillons comme s'ils étaient potentiellement infectieux. Ne pas utiliser d'échantillons inactivés par la chaleur ou contaminés. Déterminer le nombre (N) d'échantillons à analyser. Numéroter les tubes à essai de 1 à N et noter quel échantillon correspond à quel tube sur la fiche technique fournie. Diluer chaque échantillon au 1:50 à l'aide du Diluant pour Echantillon de Complément (ex: 10 µl d'échantillon à doser mélangé avec 490 µl de Diluant pour Echantillon de Complément). Bien mélanger, mais éviter de faire de la mousse et des bulles. Ne pas conserver ni réutiliser les échantillons dilués. Si le taux de concentration en complexes immuns d'un échantillon est supérieur à celui de la Solution étalon C et qu'une valeur plus précise est souhaitée, il est recommandé d'analyser de nouveau l'échantillon dilué au 1:200 (quatre fois plus dilué que l'échantillon dilué à 1:50). **Remarque:** Les échantillons dont le taux de concentration en CIC est inférieur à celui de la Solution étalon C ne doivent ni être redilués ni analysés de nouveau.

5. Ajout d'échantillons dilués dans les puits de microdosage.

Il existe deux méthodes pour ajouter les échantillons dilués, solutions étalon, contrôles et tampon dans les puits. Voir l'étape 3 du Dosage. Pour de petites séries dans lesquelles seuls quelques échantillons sont testés, les échantillons dilués et les autres réactifs peuvent être ajoutés directement dans les puits qui leur ont été attribués à l'aide d'une micropipette (100 µl/puits). Pour des petites ou des grandes séries, mais en particulier pour ces dernières, nous recommandons d'utiliser une pipette multi-canaux pour ajouter les échantillons comme indiqué ci-après. **(Ce dernier procédé peut également servir à ajouter facilement le conjugué, le substrat et la solution d'arrêt.)**

Afin d'ajouter les solutions étalon, les contrôles et les échantillons dilués dans les puits de microdosage le plus rapidement possible, on peut utiliser la « technique des répliques ». Au lieu d'ajouter 100 µl de chaque solution étalon, contrôle et échantillon dilué dans les puits enduits de C1q individuellement, il est possible d'ajouter entre 120 et 130 µl de chaque solution dans les différents puits d'une plaque vierge (non fournie) correspondant au schéma de dosage immunoenzymatique souhaité. Une fois que toutes les solutions à analyser ont été ajoutées dans les puits de microdosage de la plaque vierge, transvaser rapidement 100 µl de chaque puits de la plaque vierge dans les puits enduits de C1q, à l'aide d'une micropipette multi-canaux. Pour éviter toute contamination croisée, les embouts des pipettes doivent être changés à chaque fois que la composition des échantillons à transvaser change.

6. Dilution de Confirmation (Facultative)

Si l'on souhaite une confirmation, déterminer le nombre (N) d'échantillons devant être confirmés. Numéroter les tubes à essai de 1c à Nc et noter quel échantillon correspond à quel tube sur la fiche technique fournie. Préparer la dilution appropriée (1:50 ou 1:200) en utilisant le Diluant de Confirmation. L'échantillon dilué dans du Diluant de Confirmation doit être analysé en même temps que l'échantillon dilué à la même dilution dans du Diluant pour Echantillon de Complément.

7. Préparation de la Solution de Substrat

À préparer juste avant l'utilisation. Déterminer le volume de Solution de Substrat requis à l'aide du Tableau 1. Préparer la Solution de Substrat en ajoutant 50 µl de Substrat concentré pour chaque ml de Diluant Substrat. Bien mélanger.

Tableau 1
Matériel et Quantités Nécessaires Pour Le dosage

Puits ¹	Bandes de 8 Puits	Solution de Substrat nécessaire (ml)	Diluant Substrat (ml)	Substrat concentré (µl)
16	2	1,6	2,0	100
24	3	2,4	3,0	150
32	4	3,2	4,0	200
40	5	4,0	5,0	250
48	6	4,8	5,0	250
56	7	5,6	6,0	300
64	8	6,4	7,0	350
72	9	7,2	8,0	400
80	10	8,0	9,0	450
88	11	8,8	9,0	450
96	12	9,6	10,0	500

¹Déterminer le nombre d'échantillons à analyser, et ajouter sept (7) puits supplémentaires pour les trois solutions étalon (à tester en double), et pour le blanc. Il est conseillé de tester les solutions étalon en double, sur des bandes différentes si possible.

DOSAGE

Lire la notice produit dans son intégralité avant de commencer le dosage.

Voir la partie *PRÉPARATION DES RÉACTIFS* avant de poursuivre. Tenir fermement la plaque pendant toute la manipulation afin d'empêcher le support de bandes de se détacher par accident.

1. Consigner la position des puits de microdosage correspondant aux solutions étalon et aux échantillons à tester, ainsi que les numéros de lot indiqués sur les étiquettes des flacons. Marquer l'un des coins de la plaque de microdosage, pour avoir un point d'orientation.
2. Préparer les bandes de microdosage comme indiqué ci-après:
 - a. Réhydrater les puits de microdosage en ajoutant environ 300 µl de Solution de Lavage dans chaque puits à l'aide d'un flacon de lavage ou d'un équipement de lavage automatique de plaques.
 - b. Incuber à température ambiante (15 °C à 30 °C) pendant 15 à 20 minutes.
 - c. Éliminer le liquide des puits.
 - d. Retourner la plaque et la taper sur du papier absorbant à deux reprises afin d'éliminer toute trace de liquide. **Ne pas laisser sécher les puits.**
3. Ajouter 100 µl de Diluant pour Echantillon de Complément dans les puits qui seront utilisés pour le Blanc du lecteur de plaque.
4. Ajouter 100 µl de chaque solution étalon de CIC-C1q reconstituée (A, B, C) dans les puits en double.
5. Ajouter 100 µl de chaque échantillon dilué dans le puits de microdosage qui lui a été attribué. Voir la partie *PRÉPARATION DES RÉACTIFS*, paragraphe 5.
6. Incuber à température ambiante (15 °C à 30 °C) pendant 60 ± 1 minute.
7. Laver les puits de microdosage de la façon suivante:

Remarque: Le lavage des puits de microdosage peut se faire manuellement ou à l'aide d'un laveur de plaques automatique.

 - a. Après l'incubation de l'étape 6 (et de l'étape 9 plus bas), vider chaque puits.
 - b. Ajouter environ 300 µl de Solution de Lavage dans chaque puits à l'aide d'un flacon de lavage ou d'un dispositif de lavage automatique des plaques.
 - c. Incuber les puits pendant 1 minute à température ambiante (15 °C à 30 °C).

- d. Vider chaque puits.
- e. Ajouter environ 300 µl de Solution de Lavage dans chaque puits.
- f. Vider chaque puits.
- g. **Renouveler les étapes e à f encore trois fois.**
- h. Après le cinquième cycle de lavage, retourner la plaque et la taper sur du papier absorbant à deux reprises afin d'éliminer toute trace de liquide.
8. Ajouter 50 µl de Conjugué dans chaque puits lavé, y compris dans les puits correspondant au blanc, au moyen d'une pipette multi-canaux ou automatique.
9. Incuber les bandes de microdosage à température ambiante (15 °C à 30 °C) pendant 30 ± 1 minute. Préparer la Solution de Substrat pendant cette incubation (voir la partie *PRÉPARATION DES RÉACTIFS*, paragraphe 8).
10. Laver les puits de microdosage après l'incubation de 30 minutes (étape 9), comme décrit dans la partie *DOSAGE*, paragraphe 7.
11. Immédiatement après le lavage, ajouter 100 µl de la Solution de Substrat fraîchement préparée dans chaque puits, y compris dans les puits correspondant au blanc.
12. Incuber les bandes de microdosage à température ambiante (15 °C à 30 °C) pendant 30 ± 1 minute.
13. Ajouter 50 µl de Solution d'Arrêt dans chaque puits pour arrêter la réaction enzymatique. La Solution d'Arrêt doit être ajoutée dans les puits dans le même ordre et au même rythme que l'a été la Solution de Substrat. Tapoter doucement la plaque pour que la couleur se propage régulièrement.
14. Déterminer le degré d'absorbance à 405 nm pour chaque puits de test dans l'heure suivant l'ajout de la Solution d'Arrêt (étape 13), en effectuant une correction pour le blanc en fonction du type de système spectrophotométrique utilisé.
15. Jeter le reste des échantillons dilués, ainsi que le substrat et les bandes de microdosage utilisées (voir la partie *AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS*, paragraphe 3). Garder le portoir et le support pour bandes pour une utilisation ultérieure.

MÉTHODE DE CONFIRMATION RECOMMANDÉE

S'il est nécessaire de confirmer un résultat positif, ou si un résultat positif est incompatible avec l'interprétation clinique, l'échantillon positif peut être soumis à un test de confirmation. Un résultat négatif ne peut être confirmé. La méthode de confirmation repose sur un diluant pour échantillon (le Diluant de Confirmation) à forte concentration en chlorure de sodium.^{6,7} Pour confirmer un résultat positif, une aliquote de l'échantillon doit être diluée (à 1:50 ou 1:200) dans le Diluant de Confirmation, et une autre aliquote doit être diluée dans la même proportion dans le Diluant pour Echantillon de Complément. Les deux échantillons sont alors testés suivant le procédé habituel du dosage CIC-C1q.

Voir les parties *PRÉPARATION DES RÉACTIFS*, et *INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS* pour plus de détails.

CONTRÔLE QUALITÉ

Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'utilisation d'échantillons de contrôle afin de garantir le bon fonctionnement du dosage. C'est pourquoi des échantillons de contrôle pour le dosage CIC-C1q MicroVue sont disponibles auprès de Quidel (échantillons de contrôle CIC-C1q, Réf. catalogue A013), et doivent être utilisés comme indiqué dans la notice produit.

En plus des échantillons de contrôle, ce dosage comprend une *MÉTHODE DE CONFIRMATION RECOMMANDÉE* et une *VALIDATION*.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Calculs

On obtient une courbe étalon en utilisant les valeurs A_{405} obtenues pour chaque solution étalon, auxquelles on a soustrait la valeur obtenue pour le Blanc (en ordonnée), et la concentration correspondant à chaque solution étalon (en abscisse). La courbe étalon doit remplir les critères de validation. La plupart des ordinateurs et des calculateurs sont capables d'exécuter ces calculs. La Figure 1 est un exemple type de courbe étalon.

Le taux de concentration, exprimé en $\mu\text{g Eq/ml}$, de chaque échantillon est calculé à partir de la courbe étalon, grâce à une analyse par régression linéaire. Les valeurs calculées qui sont déterminées à partir de la courbe standard doivent être comparées à la valeur minimale pour être rapportées comme positives. Voir interprétation ci-dessous.

Ajustement du facteur de dilution. La concentration CIC attribuée a été déterminée en supposant une dilution de 1:50 de l'échantillon. Si une plus forte dilution de l'échantillon a été dosée, l'utilisateur devra multiplier le résultat calculé par le facteur de dilution correspondant. Par exemple, si la dilution de l'échantillon dosé était de 1:200, le résultat calculé doit être multiplié par 4.

Calcul du test de confirmation. Pour confirmer un résultat positif, on divise la concentration en complexes immuns [CIC] de l'échantillon dilué dans du Diluant de Confirmation par la concentration en complexes immuns [CIC] de l'échantillon dilué dans du Diluant d'Echantillon de Complément, pour obtenir un rapport:

$$\text{rapport} = \frac{\text{[CIC] dans Diluant de Confirmation}}{\text{[CIC] dans Diluant d'Echantillon de Complément}}$$

Validation

Déterminer la pente, le point d'intersection sur l'axe des ordonnées y et le coefficient de corrélation de la meilleure courbe obtenue. Les valeurs doivent être comprises entre les limites indiquées ci-après pour que le dosage soit validé.

coefficient de corrélation (r): Supérieur à 0,95
pente (m): 0,022 à 0,056
point d'intersection sur l'axe des ordonnées y (b): (-)0,108 à (+)0,238

Interprétation

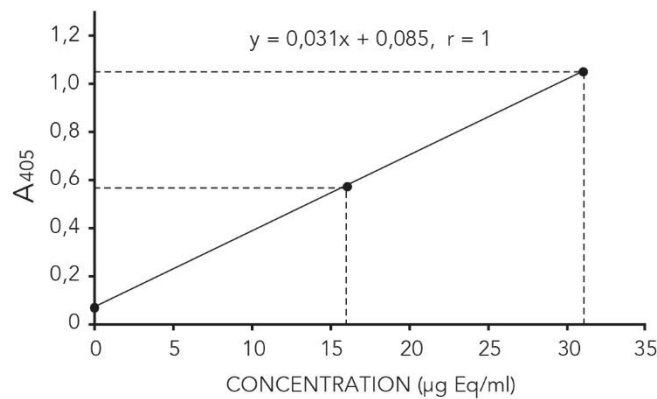
Résultats négatifs: Si la concentration en CIC est inférieure à $4.0 \mu\text{g Eq/ml}$, le résultat est considéré comme négatif.

Résultats positifs: Si la concentration en CIC est supérieure ou égale à $4.0 \mu\text{g Eq/ml}$, le résultat est considéré comme positif.

Résultats de confirmation: Si le rapport est inférieur à 0,7, le résultat positif est confirmé. Autrement dit, une réduction supérieure à 30 % confirme un résultat positif.

Il arrive parfois que des échantillons positifs lors du dosage ne soient pas confirmés comme tels. Cela peut être notamment dû à: (1) une mauvaise manipulation des échantillons (contaminés ou inactivés par la chaleur, par exemple) ou (2) des échantillons contenant des autoanticorps anti-C1q. Ces échantillons ne sont pas forcément négatifs pour les CIC. En effet, la substance à l'origine du faux positif peut masquer les CIC présents concomitamment qui, en l'absence de cette autre substance, donneraient un résultat positif pouvant être confirmé.

Figure 1
Exemple de courbe étalon



Echantillon	(A ₄₀₅)	µg Eq/ml
Etalon A	0,09	0.2
Etalon B	0,57	15.6
Etalon C	1,05	31.1
Echantillon 1	0,19	3.4
Echantillon 2	0,82	23.7
Echantillon 3	0,40	10.2
$r = 1,00$		$m = 0,031$
		$b = 0,085$

LIMITES DU DOSAGE

1. L'inactivation des échantillons par la chaleur est susceptible de provoquer des résultats faussement positifs. Étant donné que ce test mesure des agrégats d'IgG humaine de manière non sélective, on doit éviter lors du prélèvement et du traitement des échantillons les conditions qui favoriseraient l'agrégation des IgG.
2. Le dosage immunoenzymatique CIC-C1q de MicroVue a été utilisé pour analyser des échantillons de sérum ou de plasma EDTA. Les autres anticoagulants n'ont pas été testés.

VALEURS ATTENDUES

Le dosage immunoenzymatique CIC-C1q de MicroVue a été utilisé pour mesurer le taux de complexes immuns circulants (CIC) dans le sérum de 312 sujets. Cent six (106) sérums provenaient de sujets normaux et asymptomatiques. La concentration moyenne en CIC était de 2,1 µg Eq/ml (DS = 1,9).

Des échantillons prélevés sur 206 patients atteints de lupus érythémateux disséminé (LED), d'arthrite rhumatoïde (AR), ou d'autres pathologies, ont été testés avec le dosage immunoenzymatique CIC-C1q de MicroVue et avec un autre kit de dosage immunoenzymatique disponible sur le marché. La concordance entre les deux méthodes d'analyse était de 87 %.

Au sein de la population décrite plus haut, quatre-vingt-un (81) patients atteints de lupus érythémateux disséminé et trente-trois (33) sujets atteints d'arthrose rhumatoïde ont été testés. Les deux méthodes concordent pour 82 % de ces échantillons. Ces résultats figurent dans le Tableau 2.

Tableau 2
Données Comparatives Pour des Groupes de Patients Spécifiques

Résultat du test Quidel	-	+	-	+
Résultat de l'autre test	-	+	+	-
Patients AR	18	9	3	3
Patients LED	40	23	15	3
Autres	0	90	2	0

CARACTÉRISTIQUES DU TEST

Exactitude

Une solution étalon de complexe immun mise au point par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) à base d'IgG agrégée a été utilisée pour standardiser le dosage. Pour tester l'exactitude du dosage, cinq dilutions de la solution étalon de l'OMS ont été testées en triple au cours de neuf séries de dosages réalisées avec le kit MicroVue. Les valeurs dosées ont été considérées comme prédictrices des concentrations étalon attendues (coefficient de détermination = 0,97).

Quarante et un (41) échantillons de sérum et de plasma (anticoagulant EDTA) appariés, prélevés sur des patients atteints de LED et d'AR, ont été comparés, afin de démontrer l'adéquation des échantillons plasmatiques pour le dosage. Aucune différence notable n'a été constatée entre les résultats obtenus sur du sérum et sur du plasma ($\alpha = 0,05$).

Reproductibilité

Trois échantillons de sérum et trois solutions étalon ont été analysés au cours de neuf séries de dosages avec trois lots de kit différents. Chaque solution étalon a été testée en triple au cours de chaque série de dosages. Chaque échantillon de sérum a été testé dans un seul puits lors de chaque série de dosages. La variation moyenne entre chaque série, pour les échantillons à analyser et pour les solutions étalon, figure dans le Tableau 3 comme variation inter-essais. La variation moyenne au cours d'une même analyse pour la solution étalon figure dans le Tableau 3 comme variation intra-essai.

Tableau 3
Reproductibilité du dosage

	Moyenne (Eq/ml)	DS intra-essai (CV en %)	DS inter-essais (CV en %)
Échantillon 1	30	NT	3,1 (10)
Échantillon 2	7	NT	2,6 (37)
Échantillon 3	0	NT	0,3 (N/A)
Étalon 1	37	3,2 (9)	3,9 (11)
Étalon 2	20	2,1 (10)	1,8 (9)
Étalon 3	0	0,1 (N/A)	0,0 (N/A)

NT = non testé N/A = non applicable

Sensibilité

La sensibilité du dosage immunoenzymatique CIC-C1q de MicroVue est de 1,0 µg Eq/ml.

Spécificité

Des échantillons de sérum et de plasma prélevés sur cent six (106) sujets normaux et asymptomatiques ont été testés pour les CIC. Dans l'ensemble, le test est spécifique à 94 %.

ASSISTANCE

Pour obtenir une assistance à l'extérieur des USA, veuillez contacter votre distributeur local. Vous trouverez les informations sur Quidel, ses produits et ses distributeurs sur le site quidel.com.

RÉFÉRENCES

1. McDougal, J.S, McDuffie, F.C., Immune Complexes in Man: Detection and Clinical Significance, *Advances in Clinical Chemistry*, Vol. 24, p. 1, 1985.
2. Endo, L., Corman, L.C., Panush, R.S., Clinical Utility of Assays for Circulating Immune Complexes, *Medical Clinics of North America*, Vol. 69, No. 4, p. 623, July 1985.
3. Abrass, C.K., Nies, K.M., Louie, J.S., Border, W.A., Glasscock, R.J., Correlation and Predictive Accuracy of Circulating Immune Complexes with Disease Activity in Patients with Systemic Lupus Erythematosus, *Arthritis Rheum.*, Vol. 23, p. 273, 1980.
4. Duquesnoy, B., Circulating Immune Complexes and Complement in Rheumatoid Arthritis, *Ann. Biol. Clin.*, Vol. 42, p. 71, 1984.
5. Theofilopoulos, A.N., The Raji, Conglutinin, and Anti-C3 Assays for the Detection of Complement-Fixing Immune Complexes, *Methods in Enzymology*, Vol. 74, p. 511, 1981.
6. Agnello, V., Winchester, R.J., Kunkel, H.G., Precipitin Reactions of the C1q Component of Complement with Aggregated Gamma-Globulin and Immune Complexes in Gel Diffusion, *Immunology*, Vol. 19, p. 909, 1970.
7. Hack, C.E., Huijbregts, C.C., Paardekooper, J., Influence of Ionic Strength, EDTA Concentration, Endogenous C1q and Polyanions on the ¹²⁵I-C1q-Binding Test, *J. Immunol. Meth.*, Vol. 72, p. 197, 1984.
8. Richardson, J.H., Barkley, W.E., *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*, p. 11–13, 1984.
9. Davidson, I., et al., *The Blood*, p. 1 20. in Cl. Davidson and J.B. Henry (ed.), Todd-Sanford Clinical Diagnosis, W.B. Saunders Co., Philadelphia, Pennsylvania, 1969.

MicroVue est une marque commerciale déposée de Quidel Corporation. Toute autre marque citée dans ce document est la propriété de son détenteur respectif et son utilisation dans le présent document n'implique aucune reconnaissance ni aucun soutien envers un quelconque produit ou service.

REF A001 – MicroVue CIC-C1q Eq EIA Kit

IVD



EC REP

MDSS GmbH
Schiffgraben 41
30175 Hannover,
Germany



Quidel Corporation
2005 East State Street, Suite 100
Athens, OH 45701 USA
quidel.com

PIA001004FR00 (09/21)

GLOSSAIRE

REF

Référence catalogue



Conformité Européenne

EC REP

Représentant autorisé dans
la Communauté Européenne

LOT

Référence du lot



Date d'expiration



Fabricant



Conditions de stockage



Utilisation prévue



Consulter les instructions
électroniques



Risques biologiques

IVD

Pour utilisation *in vitro*



Contenu suffisant pour 96 déterminations

CONT

Contenu

CONTROL

Contrôle
