

Gangliosides Profile 1 IgM

Référence : AD GANG1MD

GM1, GM2, GD1a, GD1b, GQ1b

12 tests

1 INDICATIONS D'UTILISATION

La trousse Gangliosides Profile 1 IgM se compose d'un porte-pastilles (contenant 5 pastilles d'antigènes et 1 Contrôle Positif) ainsi que d'une cartouche de réactifs prêts à l'emploi. La trousse permet de tester 12 patients pour les paramètres suivants : GM1, GM2, GD1a, GD1b et GQ1b. La présence d'anticorps IgM contre ces paramètres dans le plasma ou le sérum du patient donne une indication pour le diagnostic d'une neuropathie auto-immune.

Les neuropathies inflammatoires du système nerveux périphérique sont caractérisées par de nombreux symptômes cliniques allant de la légère indisposition et d'une lassitude inhabituelle jusqu'aux troubles neuromusculaires et des déficiences fonctionnelles (p. ex. des déficiences respiratoires et des arrêts cardiaques).

Des autoanticorps dirigés contre les gangliosides ont été identifiés chez des patients souffrant de troubles du système nerveux périphérique.

Les gangliosides appartiennent au groupe des glycolipides acides contenant un lipide (céramide), un oligosaccharide et un acide sialique. Les gangliosides font partie des constituants de la membrane cellulaire et se trouvent surtout dans le système nerveux central et périphérique. Des structures s'apparentant aux gangliosides peuvent se trouver à la surface de micro-organismes.

Des neuropathies inflammatoires se produisent souvent à la suite d'une infection au *Campylobacter jejuni*, au cytomégalovirus, au virus d'Epstein-Barr, au *Mycoplasma pneumoniae* ou à l'*Haemophilus influenzae*. Les anticorps dirigés contre les gangliosides des micro-organismes peuvent avoir une réaction croisée avec ceux de la gaine de myéline ou des neurofibres et induire un processus inflammatoire, entraînant une démyélinisation subséquente.

En raison de la réactivité croisée avec les structures microbiennes anti-GM1, des anticorps IgM peuvent être trouvés chez les personnes saines. Pour cette raison, une incidence unique de ces anticorps n'est pas pathognomonique d'une neuropathie.

2 PRINCIPE DU TEST

Attention : cette trousse diffère des tests BlueDiver pour Instrument "classiques"!!

- Le technicien doit procéder le test MANUELLEMENT et non sur un automate.
- L'interprétation **ne se fait pas par le logiciel** Dr DOT.
- Le test se fait entre **4°C et 8°C**.
- L'incubation du sérum s'étend sur le temps d'une nuit.

Le test est basé sur une méthode immunoenzymatique. Le technicien effectue les étapes manuellement. Dans la procédure de dosage, les porte-pastilles sont incubés avec le sérum ou le plasma du patient. 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-IgM humaines conjuguées à de la phosphatase alcaline sont mises en incubation avec les pastilles 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.

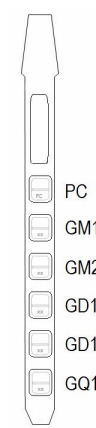
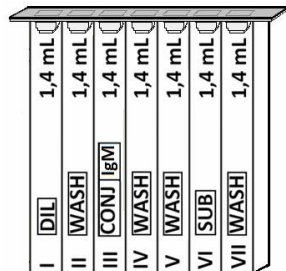
3 CONTENU DE LA TROUSSE

Abréviations:

AP = Phosphatase alcaline
MIT = MethylIsoThiazolone

BCIP = Bromo-Chloro-Indolyl-Phosphate
NBT = NitroBlue Tetrazolium

NaN₃ = Sodium Azide
NaCl = Sodium Chloride

		PORTE-PASTILLES	CARTOUCHE
Porte-pastilles	12 unités dans une pochette en aluminium <u>6 pastilles sur chaque porte-pastilles</u> 1 Contrôle Positif (PC) 5 antigènes		
Cartouche	12 unités avec 7 puits chacune		
Diluent pour échantillon	I ^{ère} position, 1 x 1,4 ml (jaune très pâle) Contient H ₂ O É TBS É NaCl É Tween É conservateur (MIT) É colorant É émulsion anti-mousse É Stabilisateur		
Tampon de lavage	II ^{ème} , IV ^{ème} , V ^{ème} et VII ^{ème} position, 4 x 1,4 ml (incolore) Contient H ₂ O É TBS É NaCl É Tween É conservateur (MIT) É émulsion anti-mousse		
Conjugué	III ^{ème} position, 1 x 1,4 ml (jaune pâle) Contient H ₂ O É TBS É NaCl É KCl É MgCl ₂ É immunoglobulines de chèvre anti-IgM humaines/AP É Stabilisateur É conservateur (MIT) É colorant É émulsion anti-mousse		
Substrat	VI ^{ème} position, 1 x 1,4 ml (jaune très pâle) Contient H ₂ O É NaN ₃ (0.05 %) É MgCl ₂ É TBS É NBT É BCIP É Stabilisateur É émulsion anti-mousse		
Documents	IFU, Certificat d'Analyse, Modèle (schéma) d'Interprétation, Schéma de pipetage, Carton d'intensité d'interprétation		

4 MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

Agitateur ELISA, peigne (Référence : AD GANGCLAMP, porte-cartouches (Référence : AD GANGCART), micropipettes, gants

5 CONSERVATION ET STABILITE DES REACTIFS

Conserver la trousse entre +2°C to +8°C. Ne pas congeler. Après l'ouverture initiale de la trousse, les cartouches de réactifs non utilisées doivent être conservées à 2-8 ° C à l'abri de lumière, de préférence à l'intérieur de la boîte originale de la trousse. Les porte-pastilles non utilisés doivent être placés dans le sachet fourni, scellés et conservés à 2-8 ° C, de préférence à l'intérieur de la boîte originale de la trousse. Lorsqu'ils sont stockés correctement, tous les composants de la trousse sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée.

6 PRECAUTIONS D'UTILISATION

Cette trousse est destinée uniquement au diagnostic in vitro. Son utilisation est réservée uniquement à un personnel technique qualifié. La trousse contient des composants pouvant présenter des risques. Eviter le contact avec les yeux, les muqueuses et la peau. Les échantillons de patients doivent être manipulés comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des maladies infectieuses.

Déchets : les échantillons des patients, les porte-pastilles et les cartouches incubées doivent être manipulés comme des déchets infectieux ; les autres réactifs ne nécessitent pas une collecte séparée à moins que les règlements officiels le spécifient autrement. Alphadia s.a/n.v et ses distributeurs autorisés ne peuvent être tenus responsables en cas de dommages directs ou indirects suite à un changement ou une modification de la procédure décrite. Dans tous les cas, les BPL doivent s'appliquer à l'utilisation de cette trousse avec toutes les règles générales ou individuelles en vigueur

7 PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, MANIPULATION ET CONSERVATION

Les échantillons peuvent être constitués de sérum ou de plasma. 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 quelques jours ou congelés à -20°C pour de plus longues périodes. Eviter les cycles répétés de congélation/décongélation des échantillons. Après congélation les échantillons doivent être agités pour assurer leur homogénéité.

8 PROCEDURE DE TEST

INDICATIONS PRELIMINAIRES, MANIPULATION ET CONSEILS :

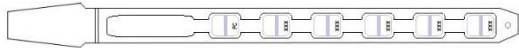
Pour assurer une circulation efficace des fluides sur la membrane, il est recommandé d'agiter les cartouches (avec une plate-forme d'agitation ELISA par exemple) lors de l'incubation des porte-pastilles dans les différents puits de la cartouche. Veiller à régler le mouvement de la plate-forme pour éviter un quelconque déversement de solutions ou une contamination croisée entre les puits.

La cartouche doit être chargée sur le porte-cartouches. Le technicien suit le schéma ci-dessous scrupuleusement. Un mouvement d'agitation continu est recommandé pour assurer une circulation efficace de fluides sur les pastilles dans les puits des cartouches de réactifs.

La procédure de test est exécutée à **4 ° C et 8 ° C**.

Pastilles d'antigènes dans porte-cartouches : Description

La face avant des porte-pastilles est la face réactive (c'est sur cette face que les antigènes et le Contrôle Positif ont été fixés). Les lignes apparaissent légèrement colorées en bleu. Cette coloration garantit que tous les antigènes ont été correctement adsorbés sur la membrane ; la coloration disparaît pendant la première étape de la procédure. La face avant affiche également la référence de la pastille d'antigène



La face non-réactive (arrière) du porte-pastilles ne montre rien.



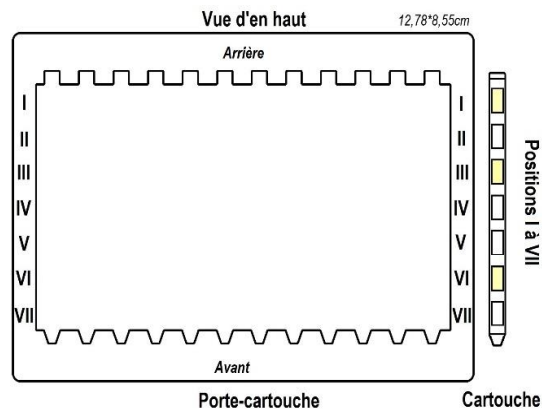
Lors de l'utilisation de plus de 1 porte-pastilles, il est conseillé d'insérer les porte-pastilles préalablement dans le peigne spécial avant de commencer le processus. L'insertion se fait manuellement.

Au cours de cette opération, éviter de toucher la zone de la membrane avec les doigts. Toujours porter des gants de laboratoire et ne toucher que les pièces en plastique des porte-pastilles pour la manipulation.

Description des CARTOUCHES DE REACTIFS :

Les cartouches de réactifs sont composées de 7 puits différents remplis de réactifs prêts à l'emploi. Les cartouches sont scellées (et les réactifs hermétiquement séparés). Elles doivent être descellées avant de démarrer le test. Une fois ouverte, veiller à manipuler les cartouches avec précaution de manière à éviter la perte de réactifs ou une contamination entre les puits.

Les cartouches doivent être chargées manuellement dans le porte-cartouches prévu à cet effet avant de démarrer le test (maximum 12 cartouches). La face avant présente à sa base une forme triangulaire, la face arrière à sa base une forme carrée. Ces formes sont utilisées pour sécuriser l'insertion des cartouches.



8.1 Préparation du test

- Amener tous les réactifs à **4°C à 8°C**.
- Le test se déroule à une température de **4°C-8°C**.
- Pipeter l'échantillon du patient (sérum/plasma, 30 µl) dans le 1er puits de la cartouche (Position I). Fixer toutes les cartouches dans le porte-cartouches.
- Fixer les porte-pastilles dans le peigne.

8.2 Réalisation du test

Etape	Description	Temps
01.	Placer le peigne avec les porte-pastilles dans le 1er puits de la cartouche (Position I, <i>Diluent pour échantillon</i>). Faire monter et descendre le peigne 10 x dans le diluent. Laisser incubé pendant une nuit à 4°C-8°C, de préférence sur un agitateur ELISA .	Pendant la nuit
02.	Placer le peigne dans la Position II (<i>Tampon de lavage</i>). Faire monter et descendre le peigne 10 x. Incuber pendant 5 minutes à 4°C-8°C, de préférence sur un agitateur ELISA .	5 min
03.	Placer le peigne dans la Position III (<i>Conjugué</i>). Faire monter et descendre le peigne 10 x. Incuber pendant 60 minutes à 4°C-8°C, de préférence sur un agitateur ELISA .	60 min
04.	Placer le peigne dans la Position IV (<i>Tampon de lavage</i>). Faire monter et descendre le peigne 10 x. Incuber pendant 5 minutes à 4°C-8°C, de préférence sur un agitateur ELISA .	5 min

05.	Placer le peigne dans la Position V (<i>Tampon de lavage</i>). Faire monter et descendre le peigne 10 x. Incuber pendant 5 minutes à 4°C-8°C, de préférence sur un agitateur ELISA.	5 min
06.	Placer le peigne dans la Position VI (<i>Substrat</i>). Faire monter et descendre le peigne 10 x. Incuber pendant 20 minutes à 4°C-8°C, de préférence sur un agitateur ELISA.	20 min
07.	Placer le peigne dans la Position VII (<i>Tampon de lavage</i>). Cette étape arrête le développement de la coloration. Faire monter et descendre le peigne 10 x. Incuber pendant 1 minute à température ambiante.	1 min

Une fois le test terminé, sortez le peigne et séchez les porte-pastilles en appuyant doucement avec du papier absorbant ; laissez sécher complètement pendant 30 minutes avant d'interpréter les résultats. L'interprétation doit être faite dans les 24 heures qui suivent la réalisation du test.

On peut soit laisser les porte-pastilles sur le peigne, soit les enlever ; dans le premier cas, il faut simplement coller le porte-pastilles sur la feuille d'interprétation fournie avec le test. Dans le deuxième cas le technicien colle les porte-pastilles individuellement sur la feuille d'interprétation.

9 INTERPRETATION DES RESULTATS

L'évaluation des résultats se fait par interprétation visuelle.

9.1 Résultats antigènes

Avant de commencer toute interprétation de résultats, l'opérateur doit vérifier la pastille du **Contrôle Positif**. Si cette pastille ne montre pas de ligne, le test a échoué et ne peut être interprété plus loin !

RESULTAT POSITIF:

Un échantillon est considéré comme positif pour un anticorps spécifique si **une ligne est visible** sur la pastille, même si son intensité est très faible.

Prière de comparer l'intensité de votre test avec les intensités indiquées sur le carton d'intensité d'interprétation (livré avec chaque kit)

RESULTAT NEGATIF:

Un échantillon est considéré comme négatif pour un anticorps spécifique si **aucune ligne n'est visible** sur la pastille.

10 PERFORMANCES

10.1 Reproductibilité

Des échantillons de référence ont été testés pour chaque anticorps dans des répétitions statistiquement représentatives dans un même essai ou lors de différents essais pour calculer respectivement la variation intra et inter-essais. Dans tous les cas, l'intensité des lignes était dans un intervalle spécifique et l'écart-type était inférieur à 10 %.

10.2 Sensibilité et Spécificité

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) ont été testés en suivant les instructions du test.

GM1		GM2		GD1a		GD1b		
	+	-		+	-		+	-
+	vrai positif 21	faux positif 0	+	vrai positif 13	faux positif 0	+	vrai positif 11	faux positif 1
-	faux négatif 4	vrai négatif 103	-	faux négatif 2	vrai négatif 113	-	faux négatif 0	vrai négatif 116
	Sensibilité 84 %			Sensibilité 87 %			Sensibilité 100 %	
	Spécificité 100 %			Spécificité 100 %			Spécificité 99 %	

GQ1b		
	+	-
+	vrai positif 5	faux positif 1
-	faux négatif 0	vrai négatif 122
	Sensibilité 100 %	
	Spécificité 99 %	

11 LIMITES DU TEST

- Le diagnostic ne doit pas être établi uniquement sur base d'une seule méthode de test.
- 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.
- Alphadia s.a/n.v 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 indiqué. L'utilisation de cette trousse est réservée uniquement à un personnel technique qualifié.
- L'utilisation de cette trousse est soumise au respect des Bonnes Pratiques de Laboratoires « BPL » et doit également tenir compte de tous les règlements généraux et spécifiques liés à l'utilisation d'une telle trousse.
- La responsabilité de Alphadia s.a/n.v se limite dans tous les cas au remplacement de la trousse.