



CCP ELISA

39513

For professional use only  
Usage réservé aux professionnels  
Sólo para uso profesional  
Nur für den Fachgebrauch  
Solo per uso professionale



Document No. E-23-0182-01

2007-06

### Zenit CCP ELISA

English:	page .....	2
Français:	page .....	13
Español:	page .....	24
Deutsch:	Seite .....	34
Italiano:	pagina.....	44

#### PRINCIPLE OF THE RA PEPTIDE EIA

**REF** 39513

**IVD**

$\Sigma$   
96

## UTILISATION

La trousse d'analyse Zenit CCP est un dosage immunoenzymatique (ELISA) destiné à la détection et à la détermination semi-quantitative des anticorps IgG dirigés contre les peptides cycliques citrullinés (CCP) dans le sérum humain. Le dosage est utilisé pour détecter les anticorps dans un échantillon unique de sérum. Les résultats du dosage, utilisés conjointement avec d'autres données biologiques et cliniques, représentent une aide au diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde (PR). L'analyse ne doit être réalisée que par du personnel de laboratoire qualifié. « Pour le diagnostic in vitro uniquement ».

## RÉSUMÉ ET EXPLICATION

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est l'une des maladies auto-immunes systémiques les plus répandues dans le monde.

Néanmoins, l'étiologie de cette maladie, qui touche 1 à 2% de la population mondiale, demeure inconnue. Le diagnostic de la PR repose essentiellement sur les manifestations cliniques de la maladie. Le seul dosage sérologique de routine est actuellement la recherche de facteurs rhumatoïdes (FR) dans le sérum. Les facteurs rhumatoïdes sont des anticorps dirigés contre la région constante des immunoglobulines de la sous-classe des IgG. Toutefois, ces anticorps sont présents, dans un pourcentage élevé, chez les individus souffrant de maladies auto-immunes, de maladies infectieuses et même chez environ 15% de la population normale.

Des anticorps plus spécifiques ont été observés dans le sérum de patients atteints de PR (cf. (1) qui offrent une synthèse générale) ; ainsi, des anticorps anti-facteur périnucléaire sont présents chez environ 50% de patients atteints de PR, avec une spécificité de plus de 70% (2). Récemment, un certain nombre de peptides cycliques synthétiques non relatifs à la filagrine ou à d'autres protéines connues ont été spécifiquement reconnus par les auto-anticorps présents dans le sérum de patients atteints de PR (3). Ces peptides ont alors été utilisés dans une méthode EIA pour la détection des auto-anticorps spécifiques de la PR (3). Des évaluations cliniques ont montré que cette technique EIA donnait des résultats positifs chez un nombre significatif de patients atteints de PR bien définie, avec une excellente spécificité par rapport à des contrôles pour d'autres pathologies (3-8). Une valeur diagnostique et pronostique a été établie entre, d'une part, la mesure des anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP) et, d'autre part, l'état des articulations et l'altération radiologique des patients en stade précoce de PR (7, 9-14). Les anticorps anti-CCP peuvent être détectés des années avant l'apparition des signes cliniques de la maladie (14). Une étude prospective sur une cohorte de patients souffrant d'arthrite indifférenciée a montré que 93% des patients positifs en anti-CCP avaient finalement développé une PR, ce qui démontre la très forte valeur prédictive positive de ces anticorps (14). La méthode Zenit CCP proposée par A. Menarini Diagnostics se base sur l'utilisation de peptides synthétiques hautement purifiés contenant des résidus de citrulline. Elle constitue une aide significative au diagnostic de la PR. La trousse anti-CCP est composée d'une sélection de peptides synthétiques améliorés, choisis pour la qualité de leurs performances dans la détection des auto-anticorps de la PR (8-14).

## PRINCIPE DU DOSAGE

La trousse de dosage des anticorps anti-CCP utilise une méthode ELISA. Elle comprend une plaque de micropuits revêtus de peptides synthétiques citrullinés (antigène). Le sérum ou le plasma dilué du patient est distribué dans les puits et mis à incuber. Si des anticorps spécifiques sont présents, ils se lient à l'antigène des puits. Tout ce qui n'est pas lié aux parois des puits est éliminé par lavage. Tout anticorps lié est détecté par addition d'un anticorps anti-IgG humaine marqué à la peroxydase de raifort, suivie d'une seconde étape de lavage et d'une incubation avec le substrat.

La présence d'anticorps ayant réagi va provoquer le développement d'une réaction colorée d'intensité proportionnelle à la quantité d'anticorps liés. Cette intensité est lue sur un spectrophotomètre.

## PRÉCAUTIONS D'EMPLOI

1. La solution d'arrêt contient de l'acide sulfurique 0,5 M. Éviter le contact avec la peau.
2. Éviter le contact des produits d'origine biologique avec la peau et les muqueuses.
3. Ne pas pipeter avec la bouche.
4. Les contrôles et étalons contiennent du sérum humain. Ils ont été testés et confirmés négatifs pour les anticorps anti-VIH 1+2, anti-VHC, pour l'AgHbs et pour l'AgVIH-1, mais ils doivent être traités comme potentiellement infectieux. Les Centre de prévention et de contrôle de maladies (CDC) et l'Institut national de santé (NIH) recommandent de traiter les agents potentiellement infectieux avec précaution, conformément au niveau de biosécurité 2.
5. Le TMB (3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine) est toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion. Manipuler ce substrat avec précaution.
6. Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption et ne pas mélanger les composants de lots différents.
7. Les puits servent de cuvette optique pour la lecture finale. De ce fait, ne pas toucher le fond des puits, ne pas les endommager ou les salir.
8. Respecter le protocole pour obtenir des résultats optimaux.  
Les étapes de pipetage et de lavage sont primordiales pour la précision et la justesse des résultats.
9. Les étalons, les contrôles et le tampon de dilution contiennent 0,09% d'azide de sodium.
10. L'azide de sodium peut réagir avec le plomb et le cuivre des tuyauteries pour former des composés explosifs. Lors de l'élimination des réactifs, bien rincer les canalisations avec de l'eau afin d'éviter l'accumulation d'azide métallique.
11. Pour le diagnostic in vitro uniquement.

## COMPOSITION DE LA TROUSSE

La trousse comprend :

- 1 plaque de micropuits revêtus de peptides CCP (96 puits) dans un sachet scellé. Prête à l'emploi.
- 5 flacons d'étalons (pool de sérums humains positifs) (1,2 ml). Prêts à l'emploi (couleur bleu).
- 1 flacon de sérum humain de contrôle de référence (1,2 ml). Prêt à l'emploi (couleur bleu).
- 1 flacon de sérum humain de contrôle positif (1,2 ml). Prêt à l'emploi (couleur bleu). (La valeur du contrôle est indiquée en U/ml sur l'étiquette).
- 1 flacon de sérum humain de contrôle négatif (1,2 ml). Prêt à l'emploi (couleur bleu).
- 1 flacon de conjugué (anticorps anti-IgG humaines conjugués à la peroxydase de raifort) (15 ml). Prêt à l'emploi (couleur rouge).
- 1 flacon de substrat TMB (15 ml). Prêt à l'emploi.
- 2 flacons de tampon de dilution (35 ml). Prêt à l'emploi (couleur bleu).
- 1 flacon de solution d'arrêt (15 ml). Prête à l'emploi.
- 2 flacons de tampon de lavage (35 ml), concentré x20.

## MANIPULATION ET CONSERVATION

- Conserver la trousse entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Il est recommandé de sortir la plaque du sachet scellé juste avant utilisation.
- Ne pas exposer la solution chromogène à la lumière.
- Les phénomènes suivants indiquent une dégradation des réactifs :
  - Une coloration bleue du chromogène dans le flacon.
  - Une absence de coloration ou une faible réaction colorée avec l'étalon A (3200 U/ml) (E450 nm < 0,9).

## PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Ce dosage peut utiliser des échantillons de sérum ou de plasma. Pour les échantillons de sérum, prélever du sang veineux et laisser complètement coaguler avant de centrifuger pour collecter le sérum. Conserver les échantillons au maximum 48 heures entre 4 et 8°C. Conserver à -20°C pour des périodes plus longues. Diluer le sérum de patient au 1/50 (10 µl de sérum dans un tube propre avec 490 µl de tampon de dilution). Vous aurez besoin d'utiliser 100 µl pour le dosage. (Voir Protocole de dosage).

## PRÉPARATION ET MANIPULATION DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être amenés à température ambiante et bien homogénéisés avant de commencer le dosage. Ne pas ouvrir le sachet contenant la microplaque avant qu'elle ne soit à température ambiante.

Bien homogénéiser les réactifs avant de les utiliser.

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de réaliser 96 dosages (y compris les étalons et les contrôles).

Les étalons et les contrôles doivent être dosés en double.

Le tampon concentré peut contenir des cristaux de sel, qui se dissolvent à 37°C.

1. Conserver les réactifs après usage entre 2 et 8°C et à l'abri de la lumière.
2. Microplaque revêtue de peptides CCP. Prête à l'emploi.  
Remettre les puits non utilisés dans la pochette métallique avec le déshydratant, fermer hermétiquement et conserver entre 2 et 8°C.
3. Tampon de lavage (35 ml). La solution de lavage est fournie sous forme concentrée 20 fois. Diluer avant utilisation. Ajouter 35 ml de tampon de lavage à 665 ml d'eau distillée, puis bien mélanger.
4. Solution substrat de TMB (15 ml). Réactif prêt à l'emploi. À conserver à l'abri de la lumière.
5. Tampon de dilution (35 ml). Prêt à l'emploi.
6. Solution de conjugué (15 ml). Prête à l'emploi.
7. Solution d'arrêt (15 ml). Prête à l'emploi.
8. Étalons A-E (1,2 ml). Cinq étalons composés de sérum humain positif, valeur exprimée en unités arbitraires.  
L'étalon A contient 3200 U/ml, l'étalon B 800 U/ml, l'étalon C 200 U/ml, l'étalon D 50 U/ml et l'étalon E 25 U/ml. Les étalons sont prêts à l'emploi.
9. Contrôle de référence (1,2 ml). Sérum humain dilué, prêt à l'emploi.
10. Contrôle négatif (1,2 ml). Sérum humain dilué, prêt à l'emploi.
11. Contrôle positif (1,2 ml). Sérum humain dilué, prêt à l'emploi.

## PROTOCOLE DE DOSAGE

### Protocole de lavage

Les composants non liés par EIA doivent être bien éliminés entre chaque étape d'incubation immunologique. Il faut pour cela laver convenablement. Chaque étape de lavage doit être réalisée avec rigueur afin de garantir la qualité des résultats. Le lavage peut être effectué manuellement ou bien avec un laveur automatique de la manière suivante :

#### Lavage manuel

1. Vider le contenu de chaque puits en retournant la microplaque à l'envers et en la secouant d'un bref mouvement vertical.
2. Remplir tous les puits avec 300 µl de tampon de lavage.
3. Ce cycle de lavage (1 et 2) doit être effectué 3 fois.
4. Retourner la plaque à l'envers et vider les puits d'un bref mouvement vertical.
5. Déposer la plaque retournée sur du papier absorbant et tapoter fermement la plaque afin d'éliminer le reste de solution de lavage.
6. Réaliser immédiatement l'étape de distribution du réactif suivant.

#### Lavage à l'aide d'un automate de lavage

Si vous utilisez un laveur automatique, vérifier que le contenu de tous les puits est aspiré correctement et que le tampon de lavage est bien distribué jusqu'au bord supérieur de chaque puits lors de chaque cycle de lavage. Le laveur doit être programmé pour effectuer 3 cycles de lavage. Réaliser immédiatement l'étape de distribution du réactif suivant.

### Protocole de dosage

Préparer les échantillons selon le paragraphe Préparation des échantillons (c.-à-d. en diluant au 1/50 avec le tampon de dilution) et les réactifs selon le paragraphe Préparation et manipulation des réactifs. La microplaque est fournie prête à l'emploi, ne pas la laver ! Les échantillons de patients peuvent être dosés en simple ou en double.

#### Protocole semi-quantitatif

1. Pipeter 100 µl de tampon de dilution en double (puits  $A_1$ ,  $A_2$  : blanc).
2. Pipeter 100 µl de chaque étalon en double (puits  $B_1$ ,  $B_2 - F_1$ ,  $F_2$ ).
3. Pipeter 100 µl de contrôle négatif et positif en double (puits  $G_1$ ,  $G_2 - H_1$ ,  $H_2$ ).
4. Pipeter 100 µl d'échantillon patient pré-dilué dans les puits correspondants de la microplaque. La durée totale du pipetage des étapes 1 à 4 ne doit pas dépasser 15 minutes.
5. Incuber pendant 60 min.  $\pm$  5 min. à température ambiante (18-25°C).
6. Jeter la solution de la microplaque et laver conformément au protocole de lavage.
7. Pipeter 100 µl de conjugué dans chaque puits.
8. Incuber pendant 30 min.  $\pm$  5 min. à température ambiante (18-25°C).
9. Jeter la solution de conjugué de la microplaque et laver conformément au protocole de lavage.
10. Pipeter 100 µl de substrat dans chaque puits.
11. Incuber pendant 30 min.  $\pm$  5 min. à température ambiante (18-25°C).
12. Ajouter 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits.
13. Lire l'absorbance à 450 nm dans les 10 minutes suivantes.

#### Protocole qualitatif

Pratiquer comme pour le dosage semi-quantitatif, mais en remplaçant les étalons (A-E) par le contrôle de référence.

## CONTRÔLE QUALITÉ

Pour le protocole semi-quantitatif, l'étalon A (3200 unités/ml) doit avoir une DO  $\geq 0,9$ . Calculer la moyenne des puits en double pour chaque étalon et contrôle. La valeur des étalons et contrôles est ensuite calculée comme indiqué au paragraphe suivant Interprétation des résultats.

Le résultat du contrôle positif doit être compris dans l'intervalle en U/ml indiqué sur l'étiquette du flacon. Le contrôle négatif doit être inférieur à 25 U/ml. Si ce n'est pas le cas, le dosage ne peut pas être validé ; il doit être refait.

Pour le protocole qualitatif, le ratio de la DO du contrôle positif divisée par la DO du contrôle de référence doit être compris dans la fourchette indiquée sur l'étiquette. Le ratio de la DO du contrôle négatif divisée par la DO du contrôle de référence doit être inférieur à 1,0.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

### Protocole semi-quantitatif

Soustraire la valeur moyenne d'absorbance des puits  $A_1$  et  $A_2$  des absorbances de chaque puits contenant les étalons, les contrôles et les échantillons. L'absorbance des cinq étalons (valeur moyenne des doublets) permet de tracer manuellement une courbe représentant l'absorbance (axe linéaire en ordonnée) en fonction de la concentration (axe logarithmique en abscisse). La courbe d'étalonnage est linéaire entre 25 et 3200 U/ml. La concentration en anticorps est exprimée en unités arbitraires qu'il est possible de déterminer en lisant la concentration correspondant à l'absorbance moyenne nette de l'échantillon sur la droite d'étalonnage. Il est également possible d'utiliser pour le calcul de la courbe un programme d'ajustement de la courbe à 4 paramètres.

Les cinq étalons (A - E) ont une valeur assignée de 3200 U/ml (A), de 800 U/ml (B), de 200 U/ml (C), de 50 U/ml (D) et de 25 U/ml (E). Ces valeurs ont été arbitrairement choisies par A. Menarini Diagnostics, dans la mesure où il n'existe pas d'étalon (inter)national reconnu pour exprimer les titres d'anticorps anti-CCP. Les échantillons donnant des résultats supérieurs à l'étalon A (3200 U/ml) peuvent être redosés après dilution à un taux plus élevé. À l'heure actuelle, il est impossible de corréliser le résultat obtenu avec la sévérité de la maladie. Les anticorps de différents patients peuvent présenter des affinités différentes, ce qui signifie que c'est davantage l'immunoréactivité de l'anticorps plutôt que sa concentration qui est mesurée.

La courbe d'étalonnage ne doit pas être exploitée pour des absorbances en dessous de celle de l'étalon E (25 U/ml). Les résultats doivent être relevés comme  $< 25$  U/ml.

### Protocole qualitatif

Soustraire la valeur moyenne d'absorbance des puits  $A_1$  et  $A_2$  des absorbances de chaque puits contenant les contrôles et les échantillons.

Calculer le ratio d'absorbance (densité optique) des contrôles et des échantillons de patients par rapport au contrôle de référence.

$$\text{Ratio d'absorbance} = \frac{\text{DO du contrôle } \mathbf{ou} \text{ de l'échantillon}}{\text{DO du contrôle de référence}}$$

## CRITÈRES D'ÉVALUATION

### Protocole semi-quantitatif

Les échantillons ayant un résultat inférieur à 25 U/ml sont considérés comme négatifs. Ceux ayant un résultat supérieur ou égal à 25 U/ml sont considérés comme positifs.

**Protocole qualitatif**

Il appartient à chaque laboratoire de déterminer la valeur seuil entre les échantillons négatifs et positifs, spécifique de la population concernée. Les résultats obtenus par A. Menarini Diagnostics sur une population de patients lors de l'évaluation clinique suggèrent de prendre la valeur seuil suivante :

**Ratio d'absorbance**

< 0,95  
≥ 0,95 et ≤ 1,0  
> 1,0

**Interprétation**

Négatif  
Limite – à redoser  
Positif

**Limites**

1. Tout résultat positif doit être utilisé conjointement avec une évaluation clinique et d'autres procédures de diagnostic. Les valeurs obtenues avec ce dosage ne sont destinées à n'être qu'une aide au diagnostic. Il appartient à chaque médecin d'interpréter les résultats en fonction des antécédents du patient, de son examen clinique et d'autres procédures de diagnostic.
2. Une concentration élevée en anticorps anti-CCP a été trouvée chez des individus ne présentant aucun signe clinique de maladie. En outre, certains patients atteints de PR peuvent avoir une concentration en anticorps non décelable. Il n'existe pas nécessairement une corrélation directe entre la concentration en anticorps anti-CCP et le stade de la maladie.
3. Étant donné qu'il n'existe pas nécessairement une corrélation directe entre la concentration en anticorps anti-CCP et le stade de la maladie, le traitement ne doit être ni initié ni modifié sur la seule base d'un résultat positif. Les examens cliniques doivent être pris en compte pour toute décision de traitement.
4. Il n'a pas été établi que la surveillance de la variation de la concentration en anticorps anti-CCP serve à contrôler la progression ou la rémission de la PR.
5. Les performances du dosage n'ont pas été établies pour des échantillons d'enfants. Il n'a pas été démontré que les anticorps anti-CCP aient une valeur diagnostique pour l'arthrite juvénile.

## Résultats attendus

La méthode EIA anti-CCP mesure la quantité d'anticorps dirigés contre des peptides synthétiques contenant des résidus de citrulline (anti-CCP). Elle est étalonnée à l'aide d'un pool de sérums positifs de patients pour le dosage semi-quantitatif. Les résultats sont exprimés en unités arbitraires. La plage de la courbe d'étalonnage va de 25 à 3200 U/ml. Ces valeurs ont été choisies arbitrairement par A. Menarini Diagnostics dans la mesure où il n'existe pas d'étalon international pour exprimer les titres en anticorps anti-CCP. La spécificité et la sensibilité ont été évaluées lors d'études cliniques sur 311 patients atteints de PR, 942 patients atteints de pathologies autres que la PR (dont d'autres maladies auto-immunes et diverses maladies infectieuses) et 330 sujets de contrôle sains. La sensibilité obtenue est de 70%. La spécificité est de 97% vis-à-vis de maladies autres que la PR et de 99% vis-à-vis des sujets sains (15).

## PERFORMANCES DU DOSAGE

**Tableau 1. Pourcentage de concordance entre la trousse Zenit CCP et une méthode alternative ELISA CCP.** Au total, 400 échantillons de sérum congelé ont été dosés. 200 échantillons proviennent de patients atteints de PR ; les 200 autres échantillons sont normaux et proviennent d'un centre de transfusion. Le tableau suivant résume les résultats.

Méthode alternative ELISA				
Trousse Zenit CCP		Positif	Négatif	Total
	Positif	148	6	154
	Négatif	3	243	246
	Total	151	249	400

Pourcentage de concordance (échantillons positifs) :

148/151 = 98,0%      IC à 95% = 94,3 – 99,6%

Pourcentage de concordance (échantillons négatifs) :

243/249 = 97,6%      IC à 95% = 94,8 – 99,1%

Pourcentage de concordance globale :

391/400 = 97,8%      IC à 95% = 95,8 – 99,0%

L'intervalle de confiance (IC) à 95% a été calculé en utilisant la méthode exacte.



**Tableau 2. Spécificité et sensibilité cliniques.** Au total, 1180 échantillons de sérum congelé (ayant une caractérisation clinique) ont été dosés. Le tableau suivant résume les résultats.

Contrôle et groupes de maladie	Nombre total	Négatif < 25 U/ml	Positif ≥ 25 U/ml
Donneurs sains	260	257	3
PR	399	90	309
GW	20	18	2
PM	20	20	0
LED	66	64	2
Syndrome de Sjögren	13	13	0
MII	98	95	3
Arthrose	21	21	0
Thyroïdite	20	20	0
Virus d'Epstein-Barr	5	5	0
Parvovirus	5	5	0
Mycoplasma	9	9	0
Toxoplasma	6	6	0
Tuberculosis	5	5	0
Yersinia	8	8	0
Salmonella	3	3	0
Chlamydia	5	4	1
Paludisme	4	4	0
Borrelia	9	9	0
Syphilis	5	5	0
Endocardite infectieuse	3	3	0
Legionella	4	4	0
ASLO	3	3	0
Bilharziose	4	4	0
Rubéole	5	5	0
Maladie de Chagas	3	3	0
Sclérodermie	17	16	1
Sclérose en plaques	20	20	0
DID	20	20	0
PM/DM	20	20	0
CM	20	19	1
Échantillons de routine	80	78	2

- PR = polyarthrite rhumatoïde  
 GW = granulomatose de Wegener  
 PM = polyangéite microscopique  
 LED = lupus érythémateux disséminé  
 PM/DM = polymyosite / dermatomyosite  
 MII = maladies inflammatoires intestinales  
 ASLO = test antistreptolysine  
 DID = diabète insulino-dépendant  
 CM = connectivite mixte

#### Sensibilité clinique

PR = 309/399 = 77,4%

IC à 95% = 73,3 – 81,5%

**Spécificité clinique**

Donneurs sains	= 257/260 = 98,8%	IC à 95% = 96,7 – 99,8%
GW	= 20/20 = 100%	IC à 95% = 83,2 – 100%
PM	= 20/20 = 100%	IC à 95% = 83,2 – 100%
LED	= 64/66 = 97,0%	IC à 95% = 89,5 – 99,6%
Syndr. de Sjögren	= 13/13 = 100%	IC à 95% = 75,3 – 100%
MII	= 95/98 = 96,9%	IC à 95% = 91,3 – 99,4%
Arthrose	= 21/21 = 100%	IC à 95% = 83,9 – 100%
Thyroïdite	= 20/20 = 100%	IC à 95% = 83,2 – 100%
Maladie infectieuse	= 85/86 = 98,8%	IC à 95% = 93,7 – 100%
Sclérodémie	= 16/17 = 94,1%	IC à 95% = 71,3 – 99,8%
Sclérose en plaques	= 20/20 = 100%	IC à 95% = 83,2 – 100%
DID	= 20/20 = 100%	IC à 95% = 83,2 – 100%
PM/DM	= 20/20 = 100%	IC à 95% = 83,2 – 100%
CM	= 19/20 = 95,0%	IC à 95% = 75,1 – 99,9%
Échant. de routine	= 78/80 = 97,5%	IC à 95% = 91,3 – 99,7%

L'intervalle de confiance (IC) à 95% a été calculé en utilisant la méthode exacte.

**Tableau 3.** La **précision intra-série** a été déterminée en analysant huit fois six échantillons différents.

	Conc. élevée		Conc. moyenne		Conc. faible	
	U/ml	DO	U/ml	DO	U/ml	DO
Moyenne	1150	1.664	239	1.014	54	0.411
Écart-type	55.3	0.02	2.3	0.01	2.8	0.02
CV (%)	4.8	0.9	1.0	0.4	5.1	3.8
	Conc. faible		Conc. faible		Conc. faible	
	U/ml	DO	U/ml	DO	U/ml	DO
Moyenne	56	0.421	60	0.443	55	0.417
Écart-type	2.1	0.01	1.2	0.01	1.7	0.01
CV (%)	3.8	2.8	1.9	1.4	3.0	2.2

**Tableau 4.** La **précision inter-séries** a été déterminée en analysant huit fois six échantillons différents. Les résultats ont été obtenus sur trois séries différentes.

	Conc. élevée		Conc. moyenne		Conc. faible	
	U/ml	DO	U/ml	DO	U/ml	DO
Moyenne	1168	1.706	242	1.031	57	0.416
Écart-type	101.7	0.07	5.0	0.03	4.4	0.03
CV (%)	8.7	3.8	2.1	2.5	7.6	6.5
	Conc. faible		Conc. faible		Conc. faible	
	U/ml	DO	U/ml	DO	U/ml	DO
Moyenne	59	0.428	62	0.441	58	0.421
Écart-type	3.1	0.02	3.0	0.01	2.8	0.02
CV (%)	5.2	3.8	4.9	1.8	4.7	3.8

**Tableau 5.** La **variation inter-lots** a été déterminée en analysant huit fois six échantillons différents. Les résultats ont été obtenus sur trois lots différents.

	<b>Conc. élevée</b>		<b>Conc. moyenne</b>		<b>Conc. faible</b>	
	U/ml	DO	U/ml	DO	U/ml	DO
Moyenne	1530	1.807	259	1.100	59	0.455
Écart-type	260.4	0.03	21.8	0.04	4.8	0.02
CV (%)	17.0	1.6	8.4	3.9	8.2	4.7
	<b>Conc. faible</b>		<b>Conc. faible</b>		<b>Conc. faible</b>	
	U/ml	DO	U/ml	DO	U/ml	DO
Moyenne	60	0.462	62	0.471	60	0.462
Écart-type	4.2	0.02	6.6	0.04	4.8	0.03
CV (%)	6.9	4.4	10.8	8.2	8.0	5.7

**Tableau 6.** Le taux de **récupération de la dilution** a été déterminé en analysant cinq dilutions sérielles de trois échantillons différents.

Échantillon	Dilution	Concentration moyenne mesurée (U/ml)	Concentration calculée (U/ml)	Taux de récupération (%)
1	1/50	1506	1506	100
	1/100	765	753	102
	1/200	383	376	102
	1/400	213	188	113
	1/800	114	94	121
Échantillon	Dilution	Concentration moyenne mesurée (U/ml)	Concentration calculée (U/ml)	Taux de récupération (%)
2	1/50	921	921	100
	1/100	486	461	105
	1/200	257	230	112
	1/400	124	115	107
	1/800	63	58	109
Échantillon	Dilution	Concentration moyenne mesurée (U/ml)	Concentration calculée (U/ml)	Taux de récupération (%)
3	1/50	2521	2521	100
	1/100	1054	1261	84
	1/200	549	630	87
	1/400	308	315	98
	1/800	168	158	107

#### Limite de détection

La limite de détection du dosage a été déterminée en analysant 14 fois l'étalon zéro sur trois lots différents. Calculée comme étant la moyenne plus deux écart-types, elle est de 1,6 U/ml.

### **Étude d'interférences**

Trois échantillons faiblement positifs ont reçu l'ajout de bilirubine à 0,2 mg/ml, d'hémoglobine à 400 mg/dl, de lipide à 15 mg/ml et de facteur rhumatoïde à 200 UI/ml. Les résultats indiquent que les concentrations analysées n'interfèrent pas avec les résultats des anti-CCP.



Menarini Diagnostics S.r.l.  
Via Sette Santi 3  
50131 Firenze  
Italia

ES

ESPAÑA  
Distribuido por

A. Menarini Diagnosticos S.A.  
Avenida del Maresme, 120  
08918 Badalona  
Barcelona

IT

ITALIA  
Distribuito da

A. Menarini Diagnostics  
Via lungo l'Enza, 7  
50012 Bagno a Ripoli (Firenze)

FR

FRANCE  
Distribué par

A. Menarini Diagnostics France S.A.R.L.  
3-5, Rue du Jura  
BP 70511  
94633 Rungis Cedex

UK

UNITED KINGDOM  
Distributed by

A. Menarini Diagnostics Ltd  
405 Wharfedale Road  
Winnersh - Wokingham  
Berkshire RG41 5RA

DE

DEUTSCHLAND  
Vertrieb durch

A. Menarini Diagnostics  
Eine Division der Berlin-Chemie AG  
Glienicke Weg 125  
12489 Berlin