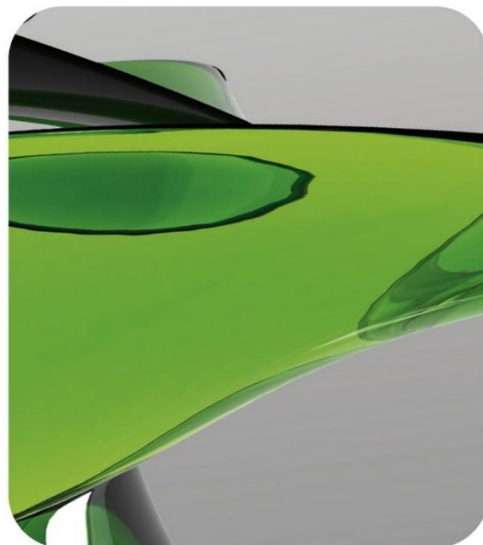




AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA® MPO

Ref 3303





Product Ref.	3303
Product Desc.	MPO
Manual Rev. No.	004: 2025-02-05

Manuel d'instructions

Contenu

1	Usage prévu	1
2	Application Clinique et Principe du Test	1
3	Contenu du kit.....	2
4	Stockage et durée de conservation	2
5	Précautions d'emploi.....	3
6	Recueil d'échantillons, manipulation et stockage	4
7	Procédure du Test	4
8	Interprétation quantitative et qualitative	7
9	Données techniques	8
10	Données relatives à la performance.....	8
11	Bibliographie	11
12	Symboles réglementaires.....	12



Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim
Germany
Tel: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Website: www.aesku.com
Mail: info@aesku.com

1 Usage prévu

AESKULISA® MPO est un enzyme-immunoessai en phase solide, qui emploie de la myéloperoxydase (MPO) native hautement purifiée et en provenance des cellules polymorphonucléaires du sang périphérique humain, pour la détection quantitative et qualitative d'anticorps contre la MPO dans le sérum humain. Les anticorps anti-MPO reconnaissent des épitopes conformationnels spécifiques qui sont accessibles uniquement dans la MPO native.

L'essai est un outils qui sert au diagnostic différentiel de la vascularite systémique autoimmune (en anglais autoimmune systemic vasculitis).

2 Application Clinique et Principe du Test

Les anticorps contre la myéloperoxydase (MPO) appartiennent au groupe d'anticorps anti-neutrophiles cytoplasmiques (AANC, ou en anglais anti-neutrophil cytoplasmic antibodies, d'où l'abréviation ANCA) qui sont dirigés contre les composants cytoplasmiques des monocytes et des granulocytes neutrophiles. Le test d'immunofluorescence indirecte (IFI) réalisé sur des neutrophiles fixés par l'éthanol représente la méthode établie pour la détection des ANCAs. Il a pu être observé que certains ANCAs créent un patron de fluorescence cytoplasmique (d'où l'appellation cANCA) tandis que d'autres ANCAs créent un patron périnucléaire (d'où l'appellation pANCA). Étant donné que les deux patrons peuvent couvrir multiples antigènes, l'immunofluorescence n'est pas adéquate pour l'obtention d'un diagnostic différentiel satisfaisant en ce qui concerne la vascularite; c'est pourquoi chaque test IFI devrait être vérifié avec des tests ELISA spécifiques.

Au même titre que la protéinase 3 représente le principal antigène spécifique pour les cANCA, la MPO a été identifiée comme étant le principal antigène pour les pANCA, mais à côté de la MPO il existe aussi d'autres composants cellulaires (par exemple la lactoferrine, la cathepsine G, l'élastase) qui peuvent également provoquer un marquage périnucléaire.

La MPO est une enzyme localisée dans les granules primaires des neutrophiles et dont le poids moléculaire s'élève approximativement à 140 kDa. Sa charge fortement négative peut être importante pour la localisation dans des structures chargées positivement comme la membrane nucléaire et l'ADN, ce qui fait qu'elle est responsable du patron de fluorescence périnucléaire des anticorps anti-MPO dans les sérums de patients quand on utilise des neutrophiles fixés par l'éthanol dans un test IFI.

Les anticorps anti-neutrophiles cytoplasmiques représentent des marqueurs importants pour le diagnostic différentiel de la vascularite autoimmune (en anglais autoimmune vasculitis). Les anticorps contre la MPO sont en corrélation avec la glomérulonéphrite nécrosante et à croissants idiopathique (en anglais idiopathic necrotizing crescentic glomerulonephritis) ou associée à une vascularite, et on les observe fréquemment chez 70% des patients atteints de polyangiite microscopique (en anglais microscopic polyangiitis) et chez 5 à 50% des patients atteints du syndrome de Churg-Strauss.

Principe du test

Les échantillons de sérum dilué au 1:101ème sont incubés dans les microplaques sensibilisées avec l'antigène spécifique. Les anticorps du patient présents dans l'échantillon se lient à l'antigène. La fraction non liée est alors éliminée par lavage. Des immunoglobulines anti-humaines marquées à la peroxydase de raifort (conjugué) sont ensuite incubées et réagissent avec le complexe antigène-anticorps fixé sur les microplaques. Le conjugué non lié est alors éliminé par lavage. L'addition de substrat TMB (tétra-méthyl-benzidine) provoque une réaction enzymatique colorée (bleue), stoppée par de l'acide dilué (la couleur vire alors au jaune). L'intensité de la couleur qui se développe à partir du chromogène dépend de la quantité de conjugué lié au complexe antigène-anticorps et est proportionnelle à la concentration initiale de chaque anticorps dans l'échantillon patient.

3 Contenu du kit

À RECONSTITUER				
Élément	Quantité	Couleur du bouchon	Couleur de la solution	Description / Contenu
Tampon échantillons (5x)	1 x 20 ml	Blanc	Jaune	Concentré 5 x Tris, chlorure de sodium (NaCl), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)
Tampon de lavage (50x)	1 x 20 ml	Blanc	Vert	Concentré 50 x Tris, NaCl, Tween 20, azide de sodium < 0,1 % (conservateur)
PRÊT À L'EMPLOI				
Élément	Quantité	Couleur du bouchon	Couleur de la solution	Description / Contenu
Contrôle négatif	1 x 1,5 ml	Vert	Incolore	Sérum humain (dilué), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)
Contrôle positif	1 x 1,5 ml	Rouge	Jaune	Sérum humain (dilué), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)
Cut-off Étalon	1 x 1,5 ml	Bleu	Jaune	Sérum humain (dilué), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)
Étalons	6 x 1,5 ml	Blanc	Jaune *	Concentration de chaque étalon : 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. Sérum humain (dilué), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)
Conjugué, IgG	1 x 15 ml	Bleu	Bleu	Contenu : Immunoglobulines antihumaines conjuguées à la peroxydase de raifort, sérum-albumine bovine (BSA)
Substrat TMB	1 x 15 ml	Noir	Incolore	Tétraméthylbenzidine stabilisée et peroxyde d'hydrogène (TMB/H ₂ O ₂)
Solution d'arrêt	1 x 15 ml	Blanc	Incolore	Acide chlorhydrique à 1 M
Microplaque	12 barrettes de 8 cupules	S.O.	S.O.	Avec micro-puits sécables. Pour la sensibilisation de la plaque, voir paragraphe 1.
* L'intensité de la coloration augmente avec la concentration				
MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI				
Lecteur de microplaques avec filtre de lecture à 450 nm et filtre de référence recommandé à 620 nm (600-690 nm). Verrerie (bouteille de 100-1 000 ml), tubes à essai pour les dilutions. Agitateur Vortex, pipettes de précision (10, 100, 200, 500, 1000 µl) ou multipipette réglable (100-1000 µl). Appareil de lavage pour microplaques (pipette à répétition ou multicanaux de 300 µl ou système automatique), papier absorbant. Nos tests sont conçus pour être utilisés avec de l'eau purifiée, conformément à la définition de la United States Pharmacopeia (USP 26 - NF 21) et de la Pharmacopée européenne (Eur.Ph. 4th ed.).				

4 Stockage et durée de conservation

Conserver tous les réactifs et la microplaque entre à 2-8 °C/35,6-46,4 °F, dans leurs emballages d'origine. Une fois préparées, les solutions reconstituées conservées à 2-8 °C/35,6-46,4 °F sont stables pendant au moins 1 mois. Ne pas utiliser les réactifs ni la microplaque au-delà de la date de péremption indiquée sur chaque composant. Éviter une exposition intense de la solution de TMB à la lumière. Conserver les microplaques dans leur pochette hermétiquement fermée, avec le dessiccant.

5 Précautions d'emploi

5.1 Données relatives aux risques pour la santé

CE PRODUIT EST EXCLUSIVEMENT RÉSERVÉ À UN USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO. Par conséquent, seul un personnel qualifié et spécialement formé dans le domaine des méthodes de diagnostic in vitro peut réaliser l'essai. Bien que ce produit ne soit pas considéré particulièrement toxique ou dangereux dans des conditions d'usage prévues, les recommandations et précautions suivantes doivent être observées pour une sécurité maximale:

Recommandations et précautions

Ce kit contient des composants potentiellement dangereux. Bien que les réactifs du kit ne soient pas classifiés comme des irritants pour les yeux et la peau, nous recommandons d'éviter le contact de ces réactifs avec les yeux et avec la peau et d'utiliser des gants jetables.

ATTENTION ! Les calibrateurs, les contrôles et les tampons contiennent de l'azide de sodium (NaN_3) comme conservateur. NaN_3 peut être toxique en cas d'ingestion ou d'absorption au contact avec la peau ou les yeux. NaN_3 peut réagir avec le plomb et le cuivre des canalisations en formant des azides métalliques hautement explosifs. Pour prévenir l'accumulation d'azide, rincer abondamment à l'eau lors du rejet. Référez-vous s'il vous plaît aux procédures de décontamination définies par le CDC ou d'autres directives locales/nationales.

Ne pas fumer, manger ou boire durant la manipulation du kit. Ne pas pipeter à la bouche.

Tout matériel d'origine humaine utilisé dans certains réactifs de ce kit (p. ex. contrôle, standards) a été analysé avec des méthodes homologuées et les résultats ont montré qu'il était négatif en ce qui concerne les virus HbsAg, Hépatite C et HIV 1. Toutefois, aucun test ne peut garantir l'absence complète d'agents viraux dans ce type de matériel. Par conséquent, il est nécessaire de manipuler les contrôles, standards et échantillons des patients comme s'il s'agissait de transmetteurs potentiels de maladies infectieuses et conformément aux conditions requises au niveau national.

Comme indiqué dans la table des matières, ce kit contient des substances d'origine animale ; les manipuler conformément aux exigences nationales.

5.2 Règles générales pour l'utilisation

Si les informations sur le produit, y compris l'étiquetage, sont défectueuses ou incorrectes, contacter le fabricant ou le fournisseur du kit de test.

Ne pas mélanger ou substituer les contrôles, calibrateurs, conjugués ou microplaques de lots différents. Cela pourrait conduire à une variation des résultats.

Veiller à ce que tous les composants atteignent la température ambiante (20-32 °C/68-89,6 °F) avant de les utiliser. Bien les agiter et suivre le schéma d'incubation recommandé pour une réalisation optimale de l'essai.

Incubation: nous recommandons de réaliser le test à 30 °C/86 °F pour les systèmes automatiques.

Ne jamais exposer les composants à une température supérieure à 37 °C/98,6 °F.

Toujours pipeter la solution de substrat avec des nouveaux embouts de pipette. Protéger ce réactif de la lumière. Ne jamais pipeter le conjugué avec des embouts de pipette utilisés au préalable pour d'autres réactifs.

Un diagnostic clinique définitif ne doit pas être basé uniquement sur les résultats de l'essai réalisé, mais il doit être élaboré par le médecin après avoir évalué tous les résultats cliniques et des laboratoires. Il faut vérifier le diagnostic en utilisant différentes méthodes diagnostiques.

6 Recueil d'échantillons, manipulation et stockage

Utiliser de préférence des échantillons de sérum qui ont été récemment prélevés. L'extraction de sang doit être conforme aux conditions requises au niveau national.

Ne pas utiliser d'échantillons ictériques, lipémiques, hémolysés ou contaminés par des bactéries. Les sérums avec des particules doivent être purifiés par centrifugation à basse vitesse (<1000 x g). Les échantillons de sang doivent être recueillis dans des tubes propres, secs et vides.

Après la séparation, les échantillons de sérum doivent être utilisés dans les 8 heures ; hermétiquement fermés, ils peuvent également être conservés 48 heures à une température de 2-8 °C/35,6-46,4 °F ou congelés à -20 °C/-4 °F pendant des périodes plus longues.

7 Procédure du Test

7.1 Préparations à effectuer avant la distribution

Diluer les réactifs concentrés :

Diluer le tampon échantillons concentré au 1:5ème avec de l'eau distillée (par ex. 20 ml + 80 ml).

Diluer le tampon de lavage concentré au 1:50ème avec de l'eau distillée (par ex. 20 ml + 980 ml).

Pour éviter toute erreur, il est recommandé de marquer les bouchons des différents étalons.

Echantillons:

Diluer les échantillons sériques au 1:101ème avec le tampon échantillons (1x), par ex. 1000 µl de tampon échantillons (1x) + 10 µl de sérum. Bien homogénéiser !

Lavage:

Préparer 20 ml de tampon de lavage dilué (1x) pour 8 cupules ou 200 ml pour 96 cupules par ex. 4 ml de concentré + 196 ml d'eau distillée

Lavage automatique:

Prendre en compte les volumes supplémentaires requis pour l'amorçage et les volumes morts de l'appareil.

Lavage manuel:

Éliminer le liquide des cupules en retournant la plaque. Tapoter fermement la plaque sur un papier absorbant, en orientant les cupules vers le bas. Distribuer 300 µl de tampon de lavage dilué dans chaque cupule et attendre 20 secondes. Réaliser toute la procédure trois fois.

Microplaques:

Calculer le nombre de cupules requises pour effectuer le test. Retirer les cupules non utilisées du cadre de la plaque et les replacer dans le sac en plastique fourni, avec le dessiccant ; fermer hermétiquement et conserver entre (2-8 °C/35,6-46,4 °F).

7.2 Schéma de pipetage

Il est recommandé de distribuer étalons, contrôles et échantillons de la façon suivante:

Pour une interprétation QUANTITATIVE					Pour une interprétation QUALITATIVE				
	1	2	3	4...		1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1		A	NC	P2		
B	Cal A	Cal E	P1		B	NC	P2		
C	Cal B	Cal F	P2		C	CC	P3		
D	Cal B	Cal F	P2		D	CC	P3		
E	Cal C	PC	P3		E	PC	...		
F	Cal C	PC	P3		F	PC	...		
G	Cal D	NC	...		G	P1	...		
H	Cal D	NC	...		H	P1	...		

CalA: calibrator A

CalB: calibrator B

CalC: calibrator C

CalD: calibrator D

CalE: calibrator E

CalF: calibrator F

PC: positive control

NC: negative control

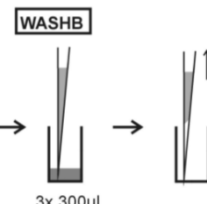
CC: cut-off calibrator

P1: patient 1

P2: patient 2

P3: patient 3

7.3 Étapes de test

Étape	Description
1.	Vérifier que les préparations de l'étape 7.1 ci-dessus ont été réalisées avant le pipetage.
2.	Selon que l'utilisateur souhaite obtenir des résultats d'interprétation quantitatifs/qualitatifs, procéder comme suit :
CONTRÔLES ET ÉCHANTILLONS	
3.	 Comme expliqué dans le chapitre 7.2 ci-dessus, dans les cupules indiquées, pipeter 100 µl de : - Étalons (CAL.A à CAL.F) pour l'interprétation QUANTITATIVE ou - Cut-off Étalon (CC) pour l'interprétation QUALITATIVE et 100 µl de chacun des composants suivants : - Contrôle négatif (NC) et contrôle positif (PC) et - Sérum de patients dilué (P1, P2...)
4.	 Incuber pendant 30 minutes à une température de 20-32 °C/68-89,6 °F.
5.	 Laver 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage (dilué au 1:50ème).

CONJUGUÉ

6.

CONJ



Distribuer 100 µl de conjugué dans chaque cupule.

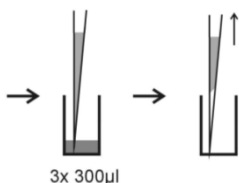
7.



Incuber pendant 30 minutes à une température de 20-32 °C/68-89,6 °F.

8.

WASHB



Laver 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage (dilué au 1:50ème).

SUBSTRAT

9.

SUB



Distribuer 100 µl de substrat TMB dans chaque cupule.

10.

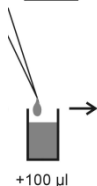


Incuber pendant 30 minutes à une température de 20-32 °C/68-89,6 °F et à l'abri de la lumière.

ARRÊT

11.

STOP



Distribuer 100 µl de solution d'arrêt dans chaque cupule, dans le même ordre que pour la distribution du substrat.

12.

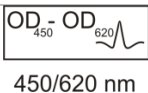


Incuber pendant au moins 5 minutes.

13.

Agiter la plaque avec précaution pendant 5 secondes.

14.



Lire l'absorbance à 450 nm (450/620 recommandée) dans les 30 minutes.

8 Interprétation quantitative et qualitative

Pour une **interprétation quantitative**, établir la courbe standard en traçant la densité optique (DO) de chaque calibrateur (axe y) par rapport aux valeurs de concentration correspondantes en U/ml (axe x). Pour obtenir de meilleurs résultats, nous recommandons des coordonnées log/lin et un ajustement de courbe par logistique pondérée à 4 paramètres (4PL). À partir de la DO de chaque échantillon, lire les concentrations d'anticorps correspondantes exprimées en U/ml.

Valeurs Normales	Équivoque	Résultats Positifs
< 12 U/ml	12 - 18 U/ml	>18 U/ml

Exemple de courbe d'étalonnage

Ne pas utiliser cet exemple pour l'interprétation des résultats de patients !

Étalons IgG	DO 450/620 nm	CV % (Variation)
0 U/ml	0 055	0,1
3 U/ml	0 195	0,7
10 U/ml	0 400	2,4
30 U/ml	0 785	0,5
100 U/ml	1 440	1,7
300 U/ml	2 300	0,9

Exemple de calcul

Patient	Réplifications (D.O.)	Moyenne (DO)	Résultat (U/ml)
P 01	0,794/0,792	0 793	32,1
P 02	1,345/1,321	1 333	84,5

Les échantillons supérieurs à la plage maximale de l'étalon doivent être signalés par >Max. Ils doivent être dilués correctement, puis retestés. Les échantillons inférieurs à la plage de l'étalon doivent être signalés par <Min.

Pour les données spécifiques du lot, se référer à la fiche de contrôle ci-jointe. Les laboratoires peuvent effectuer un contrôle qualité interne à l'aide de leurs propres contrôles et/ou de pools sériques internes, conformément à la législation national.

Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs normales sur la base de ses propres techniques, contrôles, matériel et population de patients, selon ses procédures habituelles.

Si les valeurs des contrôles ne remplissent pas les critères, le test n'est pas valide et doit être recommencé.

Les problèmes techniques suivants doivent être vérifiés : Dates de péremption des réactifs (préparés), conditions de stockage, pipettes, dispositifs, photomètre, conditions d'incubation et méthodes de lavage.

Si les composants testés affichent des valeurs aberrantes ou un écart quelconque ou si les critères de validation ne sont pas satisfaits sans cause explicable, contacter le fabricant ou le fournisseur du kit de test.

Pour l'**interprétation qualitative**, lire la densité optique du calibrateur cut-off et celle des échantillons de patients. Comparer la DO des patients à la DO du calibrateur cut-off. Pour l'interprétation qualitative, nous recommandons de considérer les sérums qui se situent dans un domaine de 20% autour de la valeur du cut-off comme étant équivoques. Tous les échantillons, dont la DO est plus élevée que celle du cut-off, sont considérés positifs et les échantillons, dont la DO est moins élevée que celle du cut-off, sont considérés négatifs.

Négatif :	DO patient	<	0,8 x DO cut-off
Équivoque :	0,8 x DO cut-off	≤	DO patient ≤ 1,2 x DO cut-off
Positif:	DO patient	>	1,2 x DO cut-off

9 Données techniques

Type d'échantillon :	sérum
Volume d'échantillon :	10µl d'échantillon dilué au 1:101ème en tampon échantillons (1x)
Temps d'incubation total :	90 minutes à température 20-32 °C/68-89,6 °F
Plage d'étalonnage :	0-300 U/ml
Sensibilité analytique :	1,47 U/ml
Conservation :	entre 2-8 °C/35,6-46,4 °F, dans les flacons d'origine uniquement
Nombre de tests par coffret:	96 tests

10 Données relatives à la performance

10.1 Sensibilité analytique

Les 60 tests de tampons d'échantillons sur la base de l'essai **AESKULISA® MPO** et 8 échantillons faibles et négatifs testés à 8 reprises ont révélé une limite de détection de 1.47 U/ml.

10.2 Spécificité et sensibilité

La microplaque est enduite de Myélopéroxydase humain natif. Les anticorps anti-MPO sont corrélés à la glomérulonéphrite nécrosante à croissants idiopathique ou associée à une vasculite. On les trouve de manière fréquente chez environ 60 % des patients présentant une polyangéite microscopique, chez 10-20 % des patients atteints de granulomatose de Wegener et 30-50 % des patients atteints d'un syndrome de Churg-Strauss.^{3,10}

Cent cinquante et un sérums de patients souffrant de granulomatose de Wegener, polyangine microscopique et autres maladies autoimmunes ont été testés sur la base de l'essai AESKULISA MPO et d'un dispositif prédictat. Parmi ces sérums, 79 se situaient dans la plage du dosage et ont été utilisés dans le cadre d'une étude comparative contre un dispositif prédictat.

AESKULISA® MPO	Dispositif prédictat				
		POS	équiv	NÉG	Total
	POS	39	4	0	43
	Nég	0	7	29	36
	Total	39	11	29	79

		95 % I.C.
Pourcentage global de concordance*	94,9 %	87.7 % à 98.0 %
Pourcentage positif de concordance	100%	91.0% à 100%
Pourcentage négatif de concordance*	90,0 %	77.0 % à 96.0 %

* Un résultat équivoque du dispositif prédictat a été considéré comme négatif pour ce calcul.

Dans le cadre d'une étude clinique comparative, seuls les échantillons contenant de façon certaine des anticorps anti-MPO (néphrite glomérulaire, polyangéite microscopique) ont été considérés positifs pour la sensibilité de diagnostic/le calcul de spécificité. Tous les autres diagnostics, malgré la présence possible d'anticorps anti-MPO, ont été considérés « négatifs » (données complètes disponibles sur demande).



	diagnostic		
AESKULISA® MPO		POS	NÉG
	POS	32	6
	Nég	2	99
	Total	34	105

			95 % I.C.
Pourcentage concordance*	global de	94,2%	89.1% à 97.1%
Pourcentage concordance*	positif de	94,1%	80.9% à 98.4%
Pourcentage concordance*	négatif de	94,3%	88.1% à 97.4%

* Seuls les échantillonnages de maladies avec présence manifeste d'anticorps MPO ont été pris en compte.

Nombre d'échantillons avec	AESKULISA® MPO		
Diagnostic	POS	NÉG	Total
Perte auditive aiguë	1	0	1
maladie rénale chronique	0	1	1
Syndrome de Churg-Strauss	0	2	2
BPCO	3	0	3
Maladie de Crohn	0	6	6
Endocardite	0	1	1
Syndrome de Goodpasture	0	1	1
En bonne santé	1	0	1
VIH	0	1	1
paralysie	0	1	1
Polymyalgie rhumatismale (vascularite)	0	1	1
Arthrite réactive	0	21	21
Arthrite rhumatoïde	0	1	1
SLE	1	0	1
Colite ulcéreuse	0	6	6
Colite ulcéreuse (infection fongique septique)	0	1	1
Granulomatose de Wegener	0	56	56
Néphrite glomérulaire (c-ANCA positif)*	0	1	1
Néphrite glomérulaire (NG)*	2	0	2
mPAN*	30	0	30
Granulomatose de Wegener/NG*	0	1	1
Total	38	101	139

10.3 Linéarité

Des sérums sélectionnés ont été analysés à l'aide de ce coffret et leur dilution a été trouvée linéaire. Cependant, du fait de la nature hétérogène des autoanticorps humains, il est possible que cette règle ne soit pas valable pour tous les échantillons.

Echantillon Numéro	Facteur de Dilution	Concentration obtenue (U/ml)	Concentration attendue (U/ml)	Corrélation (%) 90-110%
1	1 / 100	76,5	78,0	98,1
	1 / 200	37,3	39,0	95,6
	1 / 400	19,2	19,5	98,5
	1 / 800	9,4	9,8	95,9
2	1 / 100	32,8	33,0	99,4
	1 / 200	17,4	16,5	105,5
	1 / 400	9,0	8,3	108,4
	1 / 800	4,2	4,1	102,4
3	1 / 100	342,15	325	105,3
	1 / 200	177,5	162,5	109,2
	1 / 400	85,8	81,25	105,6
	1 / 800	42	40 625	103,4
4	1 / 100	235,5	252	93,5
	1 / 200	121,15	126	96,2
	1 / 400	60,3	63	95,7
	1 / 800	33,65	31,5	106,8

10.4 Précision

Afin de déterminer la précision de l'essai, on a évalué la variabilité (intra-test et inter-test) à travers une analyse de reproductibilité sur huit échantillons de sérum sélectionnés pour représenter une plage au-dessus de la courbe standard.

Intra-test			Inter-test			Variabilité entre les lots		
N° d'échantillon	Moyenne (U/ml)	CV (%)	N° d'échantillon	Moyenne (U/ml)	CV (%)	N° d'échantillon	Moyenne (U/ml)	CV (%)
1	6,2	14,3	1	6,2	14,4	1	6,2	12,7
2	7,1	10,6	2	7,1	10,8	2	7,0	10,8
3	10,1	9,0	3	10,1	8,8	3	10,1	8,8
4	14,6	9,4	4	14,6	9,3	4	14,3	9,2
5	25,9	8,0	5	28,9	7,7	5	25,6	6,5
6	38,6	1,6	6	38,6	1,7	6	32,7	3,7
7	78,5	2,5	7	78,5	3,0	8	162,3	7,4
8	173,9	5,7	8	173,9	5,8	9	53,5	8,2

10.5 Étalonnage

Étant donné qu'il n'existe pas de calibration de référence internationale, cet essai est calibré en unités arbitraires (U/ml).

11 Bibliographie

1. **Falk, RJ Jennette JC (1988).** *Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis.* N Engl J Med 318: 1651-1657.
2. **Baslund B and Wiik A (1994).** *Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) and vasculitis.* Clin Rev Allergy; 12: 297-304.
3. **Bosch X, Guilabert A, and Font J (2006).** *Antineutrophil cytoplasmic antibodies.* Lancet; 368: 404-418.
4. **Savage J, Gillis D, Benson et al. (1999).** *International consensus statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA).* Am J Clin Pathol; 111: 507-13.
5. **Talor MV, Stone JH, Stebbing J, Barin J, Rose NR and Burek CL (2007).** *Antibodies to selected minor target antigens in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA).* Clin Exp Immunol; 150: 42-48.
6. **Wiik A, Stummann L, Kjeldsen L et al. (1995).** *The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens.* Clin Exp Immunol; 101: Suppl 1, 15-17.
7. **Sutton BJ, Little C, Olsen RL and Willassen NP (1988).** *Preliminary crystallographic analysis of human myeloperoxidase.* J Mol Biol; 199: 395-396.
8. **Zeng J and Fenna RE (1992).** *X-ray crystal structure of canine myeloperoxidase at 3 Å resolution.* J Mol Biol; 226: 185-207.
9. **Radice A and Sinico RA (2005).** *Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA).* Autoimmunity; 38: 93-103.
10. **Kallenberg CGM (2007).** *Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase.* in *Autoantibodies* (ed. Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL) (2007) 2nd Edition 95-103



12 Symboles réglementaires

IVD	- Diagnosi in vitro - Pour diagnostic in vitro - In Vitro Diagnostikum - Para uso Diagnóstico in vitro	- For in vitro diagnostic use - Para uso diagnóstico in vitro - In Vitro Διαγνωστικό μέσο
REF	- Numero d'ordine - Référence Catalogue - Bestellnummer - Número de catálogo	- Catalogue number - Numéro de catálogo - Αριθμός παραγγελίας
LOT	- Descrizione lotto - Lot - Chargen Bezeichnung - Lote	- Lot - Lote - Χαρακτηρισμός παρτίδας
UDI	- Identificatore univoco del dispositivo - Identifiant unique de l'appareil - eindeutige Produktidentifizierung - Identificador único do dispositivo	- Unique Device Identifier - Identificador único del dispositivo - Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
CE	- Conformità europea - Déclaration CE de Conformité - Europäische Konformität - Declaração CE de Conformidade	- EC Declaration of Conformity - Declaración CE de Conformidad - Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- 96 determinazioni - 96 tests - 96 Bestimmungen - 96 Testes	- 96 tests - 96 pruebas - 96 προσδιορισμοί
	- Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso - Voir les instructions d'utilisation électronique - Elektronische Gebrauchsanweisung beachten - Seguir as instruções electrónicas de utilização	- See electrical instructions for use - Siga las instrucciones electrónicas de uso - Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης
	- Da utilizzarsi entro - Utiliser avant le - Verwendbar bis - Utilizar antes de	- Use by - Utilizar antes de - Χρήση μέχρι
	- Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F) - Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F) - Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F) - Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)	- Store at 2-8°C (35.6-46.4°F) - Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F) - Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Prodotto da - Fabriqué par - Hergestellt von - Fabricado por	- Manufactured by - Fabricado por - Κατασκευάζεται από
CO-CAL	- Calibratore cut-off - Etalon Seuil - Grenzwert Kalibrator - Calibrador de cut-off	- Cut off Calibrator - Calibrador de cut-off - Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
CON +	- Controllo positivo - Contrôle Positif - Positiv Kontrolle - Controllo positivo	- Positive Control - Control Positivo - Θετικός ορός ελέγχου
CON -	- Controllo negativo - Contrôle Négatif - Negativ Kontrolle - Controllo negativo	- Negative Control - Control Negativo - Αρνητικός ορός ελέγχου
CAL	- Calibratore - Etalon - Kalibrator - Calibrador	- Calibrator - Calibrador - Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
CONJ	- Coniugato - Conjugué - Konjugat - Conjugado	- Conjugate - Conjugado - Σύζευγμα
MP	- Microplastrà rivestita - Microplaque sensibilisée - Beschichtete Mikrotiterplatte - Microplaca revestida	- Coated microtiter plate - Microplaca sensibilizada - Επικαλυμμένη μικροτράκα
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio - Tampon de Lavage - Waschpuffer - Solução de lavagem	- Wash buffer - Solución de lavado - Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
SUB	- Tampone substrato - Substrat - Substratpuffer - Substrato	- Substrate buffer - Tampón sustrato - Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
STOP	- Reagente bloccante - Solution d'Arrêt - Stopreagenz - Solução de paragem	- Stop solution - Solución de parada - Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
SB 5x	- Tampone campione - Tampon Echantillons - Probenpuffer - Diluente de amostra	- Sample buffer - Tampón Muestras - Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων