

QUANTA Lite® GPA ELISA

(Gastric Parietal Cell Antibody)

Uniquement pour "Diagnostics In-Vitro"

Complexité de CLIA: Haut



REF

708765

Rx Only

Application

QUANTA Lite GPA (Gastric Parietal Cell Antibody) est un test ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) pour la détection semi-quantitative des anticorps de classe IgG dans le sérum humain, anti-ATPase (H^+/K^+) des cellules pariétales gastriques dans le sérum humain. La recherche d'anticorps anti-APG (Anticorps anti-Cellule Pariétale Gastroïde) peut être utilisée conjointement aux signes cliniques et à d'autres tests de laboratoire pour faciliter le pour aider le diagnostic dans les cas où il y a un taux élevé en anti-ATPase (H^+/K^+) des cellules pariétales gastriques, y compris des cas d'anémie pernicieuse.

Informations concernant le test

L'anémie pernicieuse est une maladie chronique et est le stade final d'une gastrite atrophique chronique de type A (auto-immune). La gastrite atrophique chronique de type A affecte le fundus et le corps de l'estomac alors que le type B (non auto-immune) affecte l'antrum tout aussi bien que le fundus et le corps de l'estomac. Le type A est associé à l'anémie pernicieuse et le type B à l'infection par *H. pylori*.¹⁻³ Pendant l'évolution de la gastrite atrophique chronique de type A vers l'atrophie gastrique, les cellules pariétales gastriques, produisant le facteur intrinsèque et HCl sont détruites et la production de ces éléments est annulée. Le facteur intrinsèque est essentiel pour l'absorption de la vitamine B₁₂ par l'intestin et son absence entraîne un déficit en vitamine B₁₂ et une anémie mégaloblastique. Le début de l'anémie pernicieuse est typiquement lent, la progression de la gastrite atrophique chronique vers l'atrophie gastrique et l'anémie clinique prend 20 à 30 ans. L'âge médian du diagnostic est de 60 ans. Bien que la maladie soit souvent ignorée jusqu'à l'anémie ou d'autres symptômes significatifs, les lésions gastriques latentes pourraient être reconnues des années avant que l'anémie ne se développe^{3,4}. Une fréquence croissante de maladies auto-immunes, comprenant la thyroïdite auto-immune (thyroïdite de Hashimoto), le diabète de type 1, la maladie d'Addison, la maladie de Grave et la myasthénie, est observée chez les patients atteints d'anémie pernicieuse. Il a été publié que les patients atteints d'anémie pernicieuse ont 3 fois plus de risque de carcinome gastrique et 13 fois plus de risque de tumeur carcinoïde gastrique⁵.

Les anticorps anti-cellules pariétales gastriques sont trouvés chez environ 90% des patients présentant une anémie pernicieuse et chez environ 30% de leurs parents de premier degré. Les anticorps anti-cellules pariétales gastriques sont habituellement détectés par l'immunofluorescence indirecte (I.F.I.) utilisant des coupes de la muqueuse gastrique des rongeurs². Les anticorps anti-cellules pariétales gastriques sont dirigées contre les antigènes membranaires des conduits sécrétaires et des vésicules tubulaires des cellules pariétales gastriques⁶. L'antigène cible de L'APG a été identifié ensuite comme l'ATPase H^+/K^+ (pompe proton gastrique), responsable de l'acidification de la lumière de l'estomac⁷⁻¹¹. APG se fixe à la fois sur les sous-unités α et β de l'ATPase H^+/K^+ ⁹.

La prévalence en APG augmente avec l'âge, 2,5% de la population normale de 30-39 ans et 9,6% de la population octogénaire³. Une étude récente rapporte qu'une grande prévalence d'APG et de maladie auto-immune gastrique associée est présente dans le diabète de type 1 et suggère fortement que les diabétiques ayant une anémie ou des symptômes gastro-intestinaux doivent être dépistés en APG¹². Des taux croissants d'APG ont été trouvés chez les patients ayant la maladie thyroïdienne, l'anémie ferriprive, l'alopecie en plaque et le vitiligo^{13, 14}.

La détection d'APG par l'I.F.I. est laborieuse et demande des interprétations subjectives par du personnel qualifié. Elle dépend aussi de la variation en qualité et en reproductibilité des coupes de tissu utilisées pour préparer les lames d'I.F.I. C'est grâce à l'identification des sous-unités α et β de l'ATPase H^+/K^+ gastrique comme molécules cibles majeures de l'anticorps anti-cellules pariétales gastriques que des tests ELISA sensibles et spécifiques pour la détection des anticorps APG ont été mis au point¹⁵. L'utilisation des tests d'ELISA permet d'obtenir des résultats standards, reproductibles et objectifs en APG.

Principe du test

L'antigène ATPase H^+/K^+ purifié, isolé de la muqueuse gastrique du porc et fixé sur les puits d'une plaque de microtitration en polystyrène dans des conditions qui préservent son état natif. Les contrôles pré-dilués et les sérums de dilués patients sont ajoutés dans différents puits. Une étape d'incubation permet la liaison entre les anticorps anti-ATPase H^+/K^+ présents dans le sérum et l'antigène immobilisé dans le puits. Les molécules non liées aux antigènes sont éliminées par lavage. Un conjugué enzymatique anti-IgG humaine est alors ajouté dans chaque puits pour révéler les autoanticorps du patient. Après une étape d'incubation, le conjugué non fixé est éliminé par lavage. L'activité enzymatique résiduelle est quantifiée grâce à l'addition d'un substrat chromogène suivie d'une étape de mesure de l'intensité de la coloration ainsi développée. Les résultats peuvent être évalués par comparaison entre la couleur du puits échantillon et celle des puits de contrôle.

Contenu du coffret

1. Plaque de microtitration ELISA revêtue d'antigène ATPase H⁺/K⁺ avec portoir de 12 barrettes de 8 micropuits en polystyrène sécables, dans un sachet d'aluminium avec un dessiccant
2. ELISA Negative Control, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain sans anticorps humains anti-ATPase H⁺/K⁺, dans du tampon avec du stabilisateur
3. GPA ELISA Low Positive, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps humains anti-ATPase H⁺/K⁺, dans du tampon avec du stabilisateur
4. GPA ELISA High Positive, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps humains anti-ATPase H⁺/K⁺, dans du tampon avec du stabilisateur
5. HRP Sample Diluent, teinté en rose, 1 flacon de 50 ml contenant du tampon Tris salin, du Tween 20, des stabilisateurs de protéines et des conservateurs
6. HRP Wash Concentrate (40x) – tampon Tris salin avec du Tween 20, teinté de rouge, 1 flacon de 25 ml. Consulter le paragraphe "Méthode" pour la dilution.
7. HRP IgG Conjugate, anticorps de chèvre anti-IgG humaines dans du tampon avec des stabilisateurs de protéines et des conservateurs, teinté en bleu, 1 flacon de 10 ml
8. TMB Chromogen, avec stabilisateurs, 1 flacon de 10 ml
9. HRP Stop Solution, acide sulfurique 0,344M, non teinté, 1 flacon de 10 ml

Avertissements

1. ATTENTION: Le diluant des échantillons, les contrôles et le conjugué contiennent 0,02% de chloramphénicol, considéré comme cancérogène dans l'état de Californie.
2. Tout le matériel d'origine humain utilisé pour la préparation des contrôles a été testé et trouvé négatif lors de la recherche d'anticorps anti-VIH, anti-anticorps de surface de l'Hépatite B et anti-Virus de l'Hépatite C à l'aide de tests approuvés par la FDA. Cependant, aucune méthode ne peut donner une garantie complète quant à l'absence de VIH, de VHB, du VHC ou d'autres agents infectieux. En conséquence, tous les sérum humains de contrôle doivent être manipulés avec les mêmes précautions que celles utilisées pour un matériel potentiellement infectieux.¹⁶
3. L'azide de sodium (NaN₃) est utilisé comme conservateur. NaN₃ est un poison et il est toxique en cas d'ingestion et de contact avec les yeux et la peau. Eviter de l'exposer aux bases, métaux ou autres composants, réagissant avec les acides. Après l'évacuation des réactifs, laver à grande eau afin d'éviter des dépôts dans les canalisations.
4. Le conjugué Peroxydase HRP contient un composant chimique dilué qui est un poison corrosif, toxique en cas d'ingestion en grande quantité. Pour éviter des brûlures chimiques, il est recommandé d'éviter tout contact avec la peau ou les yeux.
5. Le chromogène TMB est irritant et peut être toxique en cas d'inhalation, d'ingestion et d'absorption en grande quantité. Eviter tout contact avec la peau ou les yeux et toute inhalation.
6. La solution d'arrêt HRP est une solution diluée d'acide sulfurique. Eviter de l'exposer aux bases, aux métaux, aux oxydants ou tout autre composé susceptible de réagir avec les acides. L'acide sulfurique est toxique et corrosif en cas d'absorption. Eviter le contact avec la peau et les yeux pour éviter toute brûlure chimique.
7. Lors de la manipulation de ces produits, utiliser les équipements de protection personnelle appropriés.
8. Les éclaboussures de réactifs doivent être nettoyées immédiatement. Respecter les règlements en vigueur concernant l'élimination des déchets.

Précautions

1. Ce test est pour un usage diagnostic in vitro.
2. Toute substitution par d'autres réactifs que ceux fournis dans le coffret entraîne des variations de résultats.
3. Un lavage incomplet ou insuffisant et une aspiration insuffisante du liquide dans les puits d'ELISA entraînent des imprécisions et un bruit de fond élevé.
4. L'automatisation, complète ou partielle, du traitement des échantillons dans ce test peut produire des différences de résultats par rapport au traitement manuel. Chaque laboratoire est responsable de la validation des procédures automatiques afin que les résultats des tests restent dans les limites acceptables.
5. Un certain nombre de facteurs influencent la performance du test: la température initiale des réactifs, la température ambiante, l'exactitude et la reproductibilité de la technique de pipetage, la qualité du lavage et de vidange des puits d'ELISA, le photomètre utilisé pour mesurer les résultats et la durée des temps d'incubation pendant le test. Il est donc recommandé de prêter attention à tous ces facteurs pour obtenir des résultats reproductibles et rigoureux.
6. Il est recommandé de suivre strictement le protocole. Chaque modification est au risque de l'utilisateur.
7. La fermeture incomplète de la pochette contenant les puits de microtitration et le dessiccant entraîne la dégradation de l'antigène et en conséquence une mauvaise précision des résultats.
8. Des valeurs faibles et inacceptables d'absorption peuvent être progressivement observées dès le **deuxième** prélèvement dans le même flacon de conjugué HRP. Il est donc important de suivre exactement les instructions fournies pour éviter ce risque.

9. Un nettoyage ou rinçage inapproprié des appareils et instruments pourrait provoquer une contamination chimique du conjugué HRP. Des résidus de produits chimiques courants de laboratoire comme le formol, l'eau de javel, l'éthanol ou les détergents, entraînent la dégradation progressive du conjugué HRP. Il est absolument recommandé de rincer abondamment tous les instruments et appareils après l'utilisation des détergents chimiques.

Conditions de conservation

1. Conserver tous les réactifs du coffret entre 2-8°C. Ne pas congeler. Les réactifs sont stables jusqu'à la date limite d'utilisation dans des conditions de stockage et d'utilisation conformes.
2. Les puits non utilisés devront être remis dans l'emballage en aluminium avec le dessiccant, bien refermé et stocké à 2-8°C.
3. La solution de tampon diluée reste stable une semaine à 2-8°C.

Echantillons

Ce test doit être réalisé avec des sérum comme échantillons. L'addition d'azide ou d'autres conservateurs aux échantillons peut affecter le bon déroulement de la procédure. Les sérum contaminés par des agents microbiens, prétraités par la chaleur ou contenant des particules visibles ne doivent pas être utilisés. Les sérum ou échantillons hémolysés ou lipémiques sont à éviter.

Après prélèvement, le sérum doit être séparé du culot. Le document H18-A2 du NCCLS recommande les conditions suivantes de conservation: 1) Conserver les échantillons à température ambiante pas plus de 8 heures. 2) Si le test ne peut pas être fait dans les 8 heures, conserver les échantillons à 2-8°C. 3) Si le test ne s'effectue pas dans les 48 heures ou si on doit envoyer les échantillons, les congeler à -20°C ou à plus basse température. Bien agiter les échantillons décongelés.

Procédure

Matériel fourni

- 1 GPA ELISA Plate (12-1 x 8 puits), avec support
- 1 1.2mL ELISA Negative Control, pré-dilué
- 1 1.2mL GPA ELISA Low Positive, pré-dilué
- 1 1.2mL GPA ELISA High Positive, pré-dilué
- 1 50mL HRP Sample Diluent
- 1 25mL HRP Wash Concentrate (40x)
- 1 10mL HRP IgG Conjugate, anti-IgG humaines de chèvre
- 1 10mL TMB Chromogen
- 1 10mL HRP Stop Solution, (acide sulfurique 0,344M)

Autre matériel nécessaire non fourni

Pipettes 5, 100, 200-300 et 500 µl

Cônes jetables

Tubes de 4ml pour la dilution de sérum

Eau distillée ou déionisée

Récipient de 1 litre pour le tampon de lavage HRP dilué

Lecteur ELISA avec filtre de 450nm (et 620nm pour les lectures à double longueur d'ondes)

Méthode

Préparation du test

1. Porter tous les réactifs et échantillons à la température ambiante (20-26°C) et bien les mélanger avant de les utiliser.
2. Diluer la totalité de la solution de lavage (25ml) avec 975 ml d'eau distillée (1/40). La solution de tampon diluée reste stable une semaine à 2-8°C. Si la totalité de la plaque de microtitration n'est pas utilisée en une seule fois, un plus petit volume de tampon sera suffisant, par exemple pour traiter 16 puits, diluer 2ml de tampon concentré dans 78ml d'eau distillée.
3. Préparer les sérum des patients en les diluant au 1/101 dans le diluant d'échantillon (5µl dans 500µl). Les sérum doivent être utilisés dans les 8 heures qui suivent leur dilution. **Ne pas diluer** les contrôles ELISA fortement positif, faiblement positif en GPA et négatif.
4. La détermination de la présence ou de l'absence de la ATPase H⁺/K⁺ en unités arbitraires nécessitent deux puits pour chacun des trois contrôles et un ou deux puits pour chacun des sérum de patients. Il est recommandé de tester les échantillons en double.

Exécution du test

1. **PORTEZ TOUS LES REACTIFS ET LES ECHANTILLONS À TEMPERATURE AMBIANTE (20-26°C) AVANT DE LES UTILISER.** Placer le nombre nécessaire de micro puits ou de barrettes sur le portoir. Remettre immédiatement les barrettes non utilisées dans la pochette en aluminium avec le dessiccant, fermer hermétiquement pour éviter toute condensation de vapeur d'eau.
2. Distribuer 100 µl de chacun des contrôles ELISA fortement, faiblement positifs en GPA et négatif pré-dilués et de sérum des dilués patients dans les puits. Recouvrir les barrettes et laisser incuber pendant 30 minutes à température ambiante. Le temps d'incubation commence après l'ajout du dernier échantillon.

3. Lavage: aspirer le contenu de tous les puits. Ajouter 200-300µl de tampon **dilué** dans tous les puits et l'aspirer ensuite complètement. Répéter cette opération deux fois supplémentaires pour un total de trois lavages. Après le dernier lavage, retourner la plaque en la tapotant sur du papier absorbant, pour enlever tout liquide de lavage résiduel. Pour l'aspiration, maintenir la même séquence que celle utilisée lors de la distribution des échantillons.
 4. Distribuer 100 µl de conjugué HRP IgG dans chaque puits. Le conjugué doit être prélevé du flacon dans des conditions aseptiques. Prélever en une seule fois la quantité de conjugué nécessaire à la réalisation de la série. **POUR EVITER LE RISQUE DE CONTAMINATION, NE JAMAIS REMETTRE LE RESTE DU CONJUGUE NON UTILISE DANS LE FLACON.** Recouvrir les barrettes et incuber pendant 30 minutes à température ambiante, comme décrit à l'étape 2.
 5. Lavage: Répéter la procédure décrite à l'étape 3.
 6. Distribuer 100 µl de chromogène TMB dans chaque puits et laisser incuber **à l'obscurité** 30 minutes à température ambiante.
 7. Ajouter 100 µl de solution d'arrêt HRP dans chaque puits. Maintenir la même séquence et le même timing lors de l'addition de la solution d'arrêt que ceux utilisés lors de la distribution du chromogène TMB. Tapoter délicatement les plaques pour bien mélanger le contenu des puits.
 8. Lire la densité optique (DO) de chaque puits à 450nm dans l'heure qui suit l'arrêt de la réaction. Pour une lecture bichromatique, la longueur d'onde de référence peut être 620nm.

Contrôle de qualité

1. Les contrôles ELISA fortement positif GPA, faiblement positif en GPA et négatif doivent être inclus à chaque série de tests afin de s'assurer du bon fonctionnement des réactifs et du bon déroulement de la procédure.
 2. Etant donné que les contrôles ELISA fortement positifs GPA, ELISA faiblement positifs en GPA et négatifs sont prédilués, il n'est pas possible de valider le procédé de dilution des échantillons.
 3. Des contrôles de qualité supplémentaires peuvent être réalisés selon les directives nationales, les réglementations internationales ou celles des organismes d'accréditation. Des contrôles appropriés peuvent être obtenus en aliquotant un pool de sérums humains conservé à une température inférieure ou égale à -20°C.
 4. Pour valider les résultats obtenus, tous les critères décrits ci-dessous devront être vérifiés. Si un ou plusieurs de ces critères ne sont pas réalisés, le test devra être considéré comme non valide et à refaire.
 - a. La densité optique du Contrôle ELISA fortement positif en GPA pré-dilué doit être supérieure à celle du contrôle ELISA faiblement positif en GPA pré-dilué. D'autre part, la densité optique du contrôle ELISA faiblement positif en GPA doit être supérieure à celle du contrôle ELISA négatif pré-dilué.
 - b. La densité optique du contrôle ELISA fortement positif en GPA pré-dilué doit être supérieure à 1,0. Celle du contrôle négatif pré-dilué doit être inférieure à 0,2.
 - c. L'absorbance du Contrôle ELISA faiblement positif en GPA doit être deux fois supérieure à celle du contrôle négatif d'ELISA ou supérieure à 0,25.
 - d. Les contrôles ELISA négatif et ELISA fortement positif en GPA permettent de contrôler le bon fonctionnement des tests. Le Contrôle ELISA fortement positif en GPA n'assure pas la précision de la valeur seuil du test.
 - e. L'utilisateur du test peut se référer au document C24-A du NCCLS pour des informations supplémentaires concernant le contrôle qualité.¹⁷

Calcul des résultats

Déterminer d'abord la valeur moyenne des duplicates. La réactivité de chaque échantillon est calculée en divisant la DO moyenne de l'échantillon par la DO moyenne du contrôle faible et multiplier le résultat obtenu par la valeur (en unités) affectée au contrôle faible.

La valeur en unités est indiquée sur l'étiquette du flacon de contrôle ELISA positif faible en GPA.

$$\text{Valeur de l'échantillon} = \frac{\text{DO de l'échantillon}}{\text{DO du GPA ELISA Low Positive}} \times \text{valeur du GPA ELISA Low Positive}$$

La réaction n'évolue pas de manière linéaire en fonction de la quantité d'anticorps présents dans le sérum. L'augmentation et la diminution de la concentration d'anticorps se traduisent par une augmentation ou une diminution de réactivité correspondante mais ces modifications du signal ne sont pas proportionnelles (par exemple un doublement de la quantité d'anticorps ne fera pas doubler le signal). Pour une évaluation quantitative rigoureuse des anticorps du patient, il faudra réaliser des dilutions sérielles du sérum. Dans ce cas, la dernière dilution du sérum qui donne encore un signal positif sera considéré comme étant le titre en anticorps du patient.

Interprétation des résultats

Le test ELISA est une technique très sensible et peut en conséquence détecter de très faibles différences au sein d'un groupe de patients. Les valeurs limites détaillées dans le paragraphe "calcul des résultats" sont indicatives. Il est recommandé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs seuils d'interprétation en fonction de ses techniques, contrôles, équipements et populations de patients.

Les échantillons peuvent être interprétés comme négatifs, negatifs pour un anticorps anti-IgG à ATPase H⁺/K⁺), douteux, ou positif (anticorps anti-IgG à ATPase H⁺/K⁺détecté) selon les valeurs en unités détaillées ci-dessous:

	Unités
Négatif	0,0 – 20,0
Douteux	20,1 – 24,9
Positif	≥25

Les échantillons douteux doivent être retestés avant de transmettre les résultats.

1. Un résultat positif indique la présence d'anticorps anti-ATPase et la possibilité du maladie anti-ATPase (H⁺/K⁺) des cellules pariétales gastriques, y compris des cas d'anémie pernicieuse.
2. Un résultat négatif indique l'absence d'anticorps anti-APG ou bien un taux d'anticorps en dessous de la valeur seuil.
3. Un échantillon avec des taux d'APG douteux ne permet pas d'évaluer les taux d'anticorps. Si les résultats restent douteux après des tests répétés, le résultat pourrait être rendus comme douteux et/ou d'autre prélèvement serait nécessaire.
4. Nous suggérons de rendre les résultats avec la remarque suivante: "Les résultats suivants ont été obtenus avec le test ELISA Inova QUANTA Lite GPA. Les valeurs d'anti-APG obtenues avec des tests de différents fabricants ne sont pas interchangeables. Le taux d'anti-IgG trouvé n'est pas corrélé à une titration en point final."

Limites du test

1. La présence de Complexes Immuns ou d'autres agrégats d'Immunoglobulines dans le sérum humain peut entraîner l'augmentation d'une liaison non spécifique et des résultats faussement positifs.
2. Un résultat négatif en cellule pariétale gastrique n'exclut pas la présence d'une anémie pernicieuse.
3. Un résultat négatif en APG ne signifie pas l'absence d'APG parce que la concentration d'anticorps pourrait être en dessous du seuil de détection du test.
4. Un résultat positif indique seulement la présence d'anticorps anti- ATPase H⁺/K⁺ et non la présence de maladie auto-immune ni d'autre maladie.
5. La performance du test n'a pas été établie pour les enfants.
6. Les résultats obtenus à l'aide de ce test devront être corrélés avec les signes cliniques et d'autres tests sérologiques.
7. Les performances du coffret pour les échantillons autres que les sérum n'ont pas été établies.

Performances

La capacité de QUANTA Lite GPA ELISA à détecter les anticorps H⁺/K⁺ ATPase fut évaluée en comparant ce test à un kit H⁺/K⁺ ATPase ELISA disponible sur le marché. Une comparaison des résultats obtenus avec le coffret ELISA QUANTA Lite GPA et avec les tests d'immunofluorescence indirecte utilisant les coupes de rein et estomac de souris a été réalisée.

La prévalence d'APG dans une population normale, en bonne santé, augmente avec l'âge, de 2,5% environ pour les trentenaires jusqu'à 9,6% pour les octogénaires. La fréquence d'APG est généralement plus élevée chez la femme que chez l'homme. Chez les gens de moins de 55 ans, 5,5% des hommes sont positifs en APG comparé à 14,7% chez les femmes. Chez les personnes de plus de 55 ans, il y a 9,2% d'hommes et 22,3% de femmes APG positifs.⁴

Valeur normale

Un panel composé de 210 échantillons provenant d'individus asymptomatiques et en bonne santé a été testé avec le coffret ELISA QUANTA Lite GPA. L'âge varie de 17 à 77 ans (médian 32). Parmi ces 210 échantillons, 154 (73,3%) proviennent des hommes et 56 (26,7%) des femmes. La valeur moyenne est de 7,3 unités dans une fourchette de 1,3 à 84,1 unités. Deux de ces 7 échantillons positifs en APG sont aussi positifs en I.F.I. En excluant 4 résultats douteux, on obtient une spécificité de 96,6% (199/206).

Sensibilité et spécificité relatives

Les résultats de 20 échantillons de patients d'anémie pernicieuse testés avec le coffret ELISA QUANTA Lite GPA et d'un coffret ELISA d'APG déjà validé sont présentés dans le tableau 1. La comparaison avec les résultats d'I.F.I. sur lames de rein et estomac de souris de ce panel est présentée dans le tableau 2. Le tableau 3 montre les résultats comparatifs d'un panel de 41 échantillons testés avec le coffret ELISA QUANTA Lite GPA et avec le coffret ELISA d'APG déjà validé.

Tableau 1 : Résultats du panel de patients d'anémie pernicieuse obtenus avec le coffret ELISA QUANTA Lite GPA et le coffret ELISA d'APG déjà validé

coffret ELISA d'APG déjà validé	coffret ELISA QUANTA Lite GPA			
	N = 20	Positif (15)	Douteux (0)	Négatif (5)
Positif	Positif (14)	14	0	0
Douteux	Douteux (5)	1	0	4
Négatif	Négatif (0)	0	0	1

Concordance (hormis les résultats douteux) : 100% (15/15)

Tableau 2 : Résultats du panel de patients d'anémie pernicieuse obtenus avec le coffret ELISA QUANTA Lite APG et l'I.F.I. sur lames Rein/Estomac de souris

I.F.I. d'APG	coffret ELISA QUANTA Lite GPA			
	N = 20	Positif (15)	Douteux (0)	Négatif (5)
Positif	Positif (15)	15	0	0
Douteux	Douteux (0)	0	0	0
Négatif	Négatif (5)	0	0	5

Concordance : 100% (20/20)

Tableau 3 : Résultats des échantillons soumis aux tests d'APG obtenus avec le coffret ELISA QUANTA Lite GPA et le coffret ELISA d'APG déjà validé.

coffret ELISA d'APG déjà validé	coffret ELISA QUANTA Lite GPA			
	N = 42	Positif (19)	Douteux (2)	Négatif (20)
Positif	Positif (22)	17	2	3
Douteux	Douteux (0)	0	0	0
Négatif	Négatif (19)	2	0	17

Concordance (hormis les résultats douteux) : 89,7% (35/39)

Etude des réactions croisées

Sérum provenant de patients ayant des anticorps de maladies auto-immunes ou infectieuses ou d'autres pathologies comprenant des anticorps dirigés contre *Helicobacter pilori* (7), la peroxydase thyroïdienne (5), le microsème thyroïdien (5), la thyroglobuline thyroïdienne (4), la beta-2 glycoprotéine (5), le LKM-1 (5), l'hépatite auto-immune de type 1 (14), la mitochondrie M2 (4) ont été testés pour vérifier les réactions croisées du coffret ELISA QUANTA Lite GPA. Un échantillon ayant l'anti-*H. pilori* et deux avec l'anti-TPO sont positifs avec le coffret ELISA QUANTA Lite GPA. Ces 3 échantillons sont aussi positifs en APG avec l'I.F.I.

Précision

La performance des intra-essais du coffret ELISA QUANTA Lite GPA a été évaluée en testant 6 échantillons neuf fois chacun. Les résultats, résumés dans le tableau 4, montrent la précision des intra-essais.

Tableau 4 : Performance des intra-essais du coffret ELISA QUANTA Lite GPA

	Spec. A	Spec. B	Spec. C	Spec. D	Spec. E	Spec. F
Nbre d'unités moyen	40,7	93,4	35,4	58,3	47,0	10,5
Ecart type	2,3	5,7	3,2	5,4	5,1	0,7
CV %	5,6	6,1	9,0	9,2	10,8	6,9

La performance des inter-essais a été vérifiée en testant, en double, un panel de 5 échantillons deux fois par jour, pendant 3 jours.

Tableau 5 : Performance des inter-essais du coffret ELISA QUANTA Lite GPA

	Spec. 1	Spec. 2	Spec. 3	Spec. 4	Spec. 5
Nbre d'unités moyen	32,7	95,2	11,4	32,9	5,9
Ecart type	1,61	2,25	0,37	1,77	0,42
CV %	4,9	2,4	3,2	5,4	7,1

QUANTA Lite, Inova et Inova Diagnostics sont des marques d'Inova Diagnostics, Inc. © 2019 Inova Diagnostics, Inc. Tous droits réservés.

Symboles utilisés

	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Conformité aux normes européennes
	Représentant européen agréé
	Sur ordonnance uniquement, conformément aux dispositions de la FDA.
	Limite de température
	Code du lot
	Numéro de catalogue ou référence
	Fabricant
	Date de péremption
	Contenu suffisant pour <n> Tests
	Consulter les instructions d'utilisation.

Références

1. Gleeson PA and B-H Toh. Molecular Targets in Pernicious Anemia. *Immunology Today* 12(7): 233-238, 1991.
2. Gleeson PA, Van Driel IR and B-H Toh. Parietal Cell Antibodies. In: *Autoantibodies*. Peter JB and Y Shoenfeld, eds., Elsevier Science B.V. pp 600- 606, 1996.
3. Toh B-H, Van Driel IR and PA Gleeson. Pernicious Anemia. *N. Eng. J. Med.* 337(20): 1441-1448, 1997.
4. Lee GR. Pernicious Anemia and other causes of vitamin B12 (cobalamin) deficiency. In: *Wintrobe's Clinical Hematology*, 10th ed, Williams & Wilkins, pp 941-964, 1999.
5. Hsing AW, Hansson L-E, McLaughlin JK, et al. Pernicious anemia and subsequent cancer: a population-based cohort study. *Cancer* 71:745-750, 1993.
6. Hoedemaeker PJ and S Ito. Ultrastructural localization of gastric parietal cell antigen with peroxidase-coupled antibody. *Lab. Invest.* 22:184-188, 1970.
7. Burman P, Mardh S, Norberg L and FA Karlsson. Parietal cell antibodies in pernicious anemia inhibit H⁺/K⁺ -adenosine triphosphatase, the proton pump of the stomach. *Gastroenterol.* 96:1434-1438, 1989.
8. Toh B-H, Gleeson PA, Simpson RJ, et al. The 60- to 90 kDa parietal cell autoantigen associated with autoimmune gastritis is a β subunit of the gastric H⁺/K⁺ ATPase (proton pump). *PNAS* 87:6418-6422, 1990.
9. Callagham JM, Khan MA, Alderuccio F, Van Driel IR, Gleeson PA and B-H Toh. α and β subunits of the gastric H⁺/K⁺ ATPase are concordantly targeted by parietal cell autoantibodies associated with autoimmune gastritis. *Autoimmun.* 16:289-295, 1993.
10. Ma JY, Borch K and S Mardh. Human gastric H,K-adenosine triphosphatase β -subunit is a major autoantigen in atrophic corpus gastritis. Expression of the recombinant human glycoprotein in insect cells. *Scand. J. Gastroenterol.* 29:790-794, 1994.
11. Claeys D, Galler G, Appelmelk BJ, Negrini R and T Kirchner. The gastric H⁺/K⁺-ATPase is a major autoantigen in chronic *Helicobacter pylori* gastritis with body mucosa atrophy. *Gastroenterol.* 115:340-347, 1998.
12. DeBlock CRM, DeLeeuw IH, Van Gaal LF and the Belgian Diabetes Registry. High prevalence of manifestations of gastric autoimmunity in parietal cell antibody-positive type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. *J. Clin. Endocrin. Metab.* 84(1):4062-4067, 1999.
13. Mandry, RC, Ortiz LJ, Lugo-Somolinos A and JL Sanchez. Organ-specific autoantibodies in Vitiligo patients and their relatives. *Int. J. Dermatol.* 35(1): 118-121, 1996.
14. Kumar B, Sharma VK and S Sehgal. Anti-smooth muscle and anti-parietal cell antibodies in Indians with alopecia areata. *Int. J. Dermatol.* 34(8): 542-545, 1995.
15. Chuang JS, Callagham JM, Gleeson PA and B-H Toh. Diagnostic ELISA for parietal cell autoantibody using tomato lectin-purified gastric H⁺/K⁺-ATPase (proton pump). *Autoimmun.* 12:1-7, 1992.
16. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Center for Disease Control/National Institute of Health, 1999, Fourth Edition, (HHS Pub. # (CDC) 93-8395).
17. National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1991. Internal Quality Control: Principles and Definitions; Approved Guideline, NCCLS Document C24-A, Vol 11(6).

Fabricant:

Inova Diagnostics, Inc.
9900 Old Grove Road
San Diego, CA 92131
United States of America
Technical Service (U.S. & Canada Only): 877-829-4745
Technical Service (Outside the U.S.): 1 858-805-7950
support@inovadx.com

Australian Sponsor:

Werfen Australia Pty Ltd
59-61 Dickson Avenue
Artarmon NSW 2064 Australia
Tel. +61 2 9098 0200 / 1300 369 132
<http://au.werfen.com/>

Représentant Autorisé:

Medical Technology Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
66386 St. Ingbert, Germany
Tel.: +49-6894-581020
Fax.: +49-6894-581021
www.mt-procons.com

628765FR

Septembre 2019
Révision 6

