



REF 10511
Parietal cell



Mode d'emploi

Table des matières

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	Prélèvement, manipulation et stockage des échantillons	4
7	Procédure de test	4
8	Interprétation quantitative.....	7
9	Données techniques	8
10	Données de performance.....	8
11	Bibliographie	9



AIDA GmbH
Dr.-Karl-Aschoff-Straße 9
55543 Bad Kreuznach
Germany
Phone: +49 671 92065090
Fax: +49 671 92065091
Website: www.aida-diagnostics.com
Mail: info@aida-diagnostics.com

	Réf. du produit	10511
	Desc. du produit	Parietal cell
	N° de révision du manuel	005: 2024-03-06

1 Usage prévu

Parietal cell est un dosage immunoenzymatique en phase solide utilisant une H⁺ /K⁺ -ATPase native purifiée pour la détection quantitative d'anticorps dirigés contre les cellules pariétales dans le sérum humain.

Des anticorps dirigés contre les cellules pariétales peuvent être détectés dans l'anémie pernicieuse.

2 Application clinique et principe du test

L'anémie pernicieuse, la cause la plus fréquente de carence en vitamine B12 dans les populations occidentales, se caractérise par des lésions pathologiques du fond et du corps de l'estomac.

L'atrophie de la muqueuse gastrique, la perte sélective de cellules pariétales et de cellules principales de la muqueuse et l'infiltration lymphocytaire de la sous-muqueuse sont typiques de cette maladie.

L'anémie pernicieuse se caractérise par la présence d'auto-anticorps dirigés contre l'enzyme de transport de l'hydrogène H⁺ /K⁺ -ATPase des cellules pariétales gastriques, responsable de l'acidification de la lumière de l'estomac. Les auto-anticorps anti-cellules pariétales peuvent être détectés par immunofluorescence chez 80 à 90 % des patients atteints d'anémie pernicieuse, mais peuvent également être présents chez 2 à 5 % des individus en bonne santé. Les systèmes de test ELISA pour la détection de ces auto-anticorps présentent une sensibilité d'environ 80 % et une spécificité d'environ 90 %.

Principe du test

Les échantillons de sérum dilués à 1/101 sont incubés dans les microplaques revêtues de l'antigène spécifique. S'ils sont présents dans l'échantillon, les anticorps se lient à l'antigène. La fraction non liée est éliminée à l'étape suivante. Ensuite, les immunoglobulines anti-humaines conjuguées à la peroxydase de raifort (conjugué) sont incubées et réagissent avec le complexe antigène-anticorps des échantillons contenus dans les microplaques. Le conjugué non lié est éliminé à l'étape suivante. L'ajout d'un substrat TMB provoque une réaction enzymatique colorimétrique (bleue) qui est arrêtée par l'acide dilué (la couleur vire 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.

 autoimmune diagnostic assays	Réf. du produit	10511
	Desc. du produit	Parietal cell
	N° de révision du manuel	005: 2024-03-06

3 Contenu du kit

À RECONSTITUER				
Élément	Quantité	Couleur du bouchon	Couleur de la solution	Description / Contenu
Tampon d'échantillon (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 (50 x)	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)
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 de 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 puits	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 (520-690 nm). Verrerie (bouteille de 100-1 000 ml), tubes à essai pour les dilutions. Agitateur Vortex, pipettes de précision (10, 100, 200, 500, 1 000 µl) ou multipipette réglable (100-1 000 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 Pharmacopée des États-Unis (USP 26 - NF 21) et de la Pharmacopée européenne (Ph. Eur. 4ème éd.).				

4 Stockage et durée de conservation

Conserver tous les réactifs et la microplaque à une température de 2-8°C/35,6-46,4°F dans leur conteneur d'origine. Une fois préparées, toutes les solutions reconstituées sont stables pendant au moins un mois à une température de 2-8°C/35,6-46,4°F. Les réactifs et la microplaque doivent impérativement être utilisés avant la date de péremption indiquée sur chaque composant. Éviter toute exposition intense de la solution de TMB à la lumière. Entreposer les microplaques dans l'emballage prévu, avec le déshydratant, et fermer hermétiquement.

	Réf. du produit	10511
	Desc. du produit	Parietal cell
	N° de révision du manuel	005: 2024-03-06

5 Précautions d'emploi

5.1 Données relatives aux risques pour la santé

CE PRODUIT EST EXCLUSIVEMENT À USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO. L'utilisation de ce kit est donc réservée à un personnel averti et spécialement formé aux méthodes de diagnostic in vitro. Bien que ce produit ne soit pas considéré comme particulièrement toxique ou dangereux dans des conditions d'usage prévu, les recommandations suivantes doivent être observées pour une sécurité maximale :

Recommandations et précautions

Ce kit contient des composants potentiellement dangereux. Bien que les réactifs contenus dans le kit ne soient pas classés comme irritants pour les yeux et la peau, il est recommandé d'éviter tout contact avec les yeux et la peau et de porter des gants jetables.

AVERTISSEMENT ! Les étalons, les contrôles et les tampons contiennent de l'azide de sodium (NaN_3) comme conservateur. Le NaN_3 peut être toxique en cas d'ingestion ou d'absorption par la peau ou les yeux. Le NaN_3 peut réagir avec la tuyauterie en plomb et en cuivre pour former des azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer avec un grand volume d'eau pour éviter l'accumulation d'azide. Se référer aux procédures de décontamination décrites par le CDC ou d'autres directives locales/nationales.

Ne pas fumer, manger, ni boire lors de la manipulation du kit. Ne pas pipeter à la bouche.

Tous les matériaux d'origine humaine utilisés pour certains réactifs de ce kit (par ex., contrôles, étalons) ont été testés selon des méthodes approuvées et se sont révélés négatifs au HbsAg, à l'hépatite C et au VIH 1. Cependant, aucun test ne peut garantir l'absence totale d'agents viraux dans ces matériaux. Il convient donc de manipuler les contrôles du kit, les étalons et les échantillons de patients comme étant susceptibles de transmettre des maladies infectieuses et conformément aux exigences nationales.

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

5.2 Instructions d'utilisation générales

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 remplacer des réactifs ou des microplaques provenant de numéros de lots différents. Cela peut entraîner des variations dans les résultats.

Pour une performance optimale du test, porter tous les composants à température ambiante (20-32°C/68-89,6°F) avant utilisation, mélanger soigneusement et respecter le modèle d'incubation recommandé.

Incubation : Nous recommandons de tester les performances à 30°C/86°F pour les systèmes automatisés.

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

Toujours pipeter la solution de substrat avec des embouts de pipetage neufs. Protéger le réactif de la lumière. Ne jamais pipeter le conjugué avec des embouts préalablement utilisés avec d'autres réactifs.

Un diagnostic clinique définitif ne doit pas s'appuyer uniquement sur les résultats du test effectué, mais doit être posé par le médecin en tenant compte de l'ensemble des observations cliniques et analyses biologiques. Il est impératif de confirmer le diagnostic avec d'autres méthodes.

 autoimmune diagnostic assays	Réf. du produit	10511
	Desc. du produit	Parietal cell
	N° de révision du manuel	005: 2024-03-06

6 Prélèvement, manipulation et stockage des échantillons

Utiliser de préférence des échantillons de sérum fraîchement prélevés. Les prélèvements de sang doivent être conformes aux exigences nationales. Ne pas utiliser d'échantillons ictériques, lipémiques, hémolysés ou contaminés par des bactéries.

Les particules contenues dans le sérum doivent être éliminées par centrifugation à faible vitesse ($<1\,000 \times g$). Les échantillons de sang doivent être prélevés 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 $2-8^{\circ}\text{C}/35,6-46,4^{\circ}\text{F}$ ou congelés à $-20^{\circ}\text{C}/-4^{\circ}\text{F}$ pendant des périodes plus longues.

7 Procédure de test

7.1 Préparations préalables

Dilution de réactifs concentrés :

Diluer le tampon d'échantillon concentré à 1/5 avec de l'eau distillée (par ex. 20 ml + 80 ml).

Diluer le tampon de lavage concentré à 1/50 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.

Échantillons :

Diluer les échantillons de sérum à 1/101 avec un tampon d'échantillon (1x)
par ex. 1 000 µl de tampon d'échantillon (1x) + 10 µl de sérum. Bien mélanger !

Lavage :

Préparer 20 ml de tampon de lavage dilué (1x) pour 8 puits ou 200 ml pour 96 puits
par exemple, 4 ml de concentré plus 196 ml d'eau distillée.

Lavage automatisé :

Tenir compte des volumes excédentaires nécessaires à la mise en place de l'instrument et du volume mort de la pipette du robot.

Lavage manuel :

Jeter le liquide des puits en retournant la plaque. Taper vigoureusement le cadre du micropuits avec les puits vers le bas sur du papier adsorbant propre. Pipeter 300 µl de tampon de lavage dilué dans chaque puits, attendre 20 secondes. Répéter l'ensemble de la procédure deux fois de plus.

Microplaques :

Calculer le nombre de puits nécessaires pour le test. Retirer les puits non utilisés du cadre, les remettre en place et les ranger dans le sac en plastique fourni, avec le déshydratant, et fermer hermétiquement ($2-8^{\circ}\text{C}/35,6-46,4^{\circ}\text{F}$).

7.2 Schéma de pipetage

Nous suggérons de pipeter les étalons, contrôles et échantillons de la façon suivante :

Pour une interprétation *QUANTITATIVE*

	1	2	3	4...
A	Éta A	Éta E	P1	
B	Éta A	Éta E	P1	
C	Éta B	Éta F	P2	
D	Éta B	Éta F	P2	
E	Éta C	CP	P3	
F	Éta C	CP	P3	
G	Éta D	CN	...	
H	Éta D	CN	...	

Éta A : étalon A

Éta B : étalon B

Éta C : étalon C

Éta D : étalon D

Éta E : étalon E

Éta F : étalon F

CP : contrôle positif


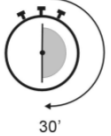
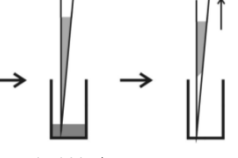
CN : contrôle négatif


P1 : patient 1


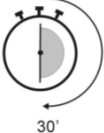
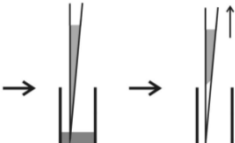
P2 : patient 2



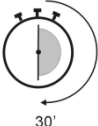
P3 : patient 3

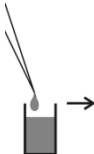


7.3 Étapes du test

Étape	Description
1.	Vérifier que les préparations de l'étape 7.1 ci-dessus ont été réalisées avant le pipetage.
2.	Procéder comme suit en fonction des résultats de l'interprétation quantitative souhaités :
CONTRÔLES ET ÉCHANTILLONS	
3.	 +100 µl <p>Comme expliqué dans le chapitre 7.2 ci-dessus, dans les puits indiqués, pipeter 100 µl de : Étalons (ÉTA.A à ÉTA.F) et 100 µl de chacun des composants suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Contrôle négatif (CN) et contrôle positif (CP), et • Sérum de patients dilué (P1, P2...)
4.	 30' <p>Incuber pendant 30 minutes à une température de 20-32°C/68-89,6°F.</p>
5.	<p>WASH B</p>  3x 300 µl <p>Laver 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage (dilué à 1/50).</p>

<div> autoimmune diagnostic assays</div>		Réf. du produit	10511
		Desc. du produit	Parietal cell
		N° de révision du manuel	005: 2024-03-06

CONJUGUÉ	
6.	<div><div>CONJ</div><div> +100 µl</div></div> <div>Pipeter 100 µl de conjugué dans chaque puits.</div>
7.	<div><div> 30'</div><div>Incuber pendant 30 minutes à une température de 20-32°C/68-89,6°F.</div></div>
8.	<div><div><div>WASH B</div><div> 3x 300 µl</div></div><div>Laver 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage (dilué à 1/50).</div></div>

SUBSTRAT	
9.	<div><div>SUB</div><div> +100 µl</div></div> <div>Pipeter 100 µl de substrat TMB dans chaque puits.</div>
10.	<div><div><div>  30'</div><div>Incuber pendant 30 minutes à une température de 20-32°C/68-89,6°F et à l'abri de la lumière.</div></div></div>

ARRÊT	
11.	<div><div>STOP</div><div> +100 µl</div></div> <div>Distribuer 100 µl de solution d'arrêt dans chaque puits, dans le même ordre que pour la distribution du substrat.</div>
12.	<div><div> 5'</div><div>Incuber pendant au moins 5 minutes.</div></div>
13.	Agiter la plaque avec précaution pendant 5 secondes.
14.	<div><div><div>DO - DO</div><div> 450/620 nm</div></div><div>Lire l'absorbance à 450 nm (recommandation : 450/620) dans les 30 minutes.</div></div>

8 Interprétation quantitative

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

Plage normale	Plage équivoque	Résultats positifs
< 12 U/ml	12 – 18 U/ml	> 18 U/ml

Exemple de courbe standard

Ne PAS utiliser cet exemple pour l'interprétation du résultat du patient

Étalons IgG	DO 450/620 nm	CV % (Variation)
0 U/ml	0,042	0,4
3 U/ml	0,163	2,6
10 U/ml	0,307	0,2
30 U/ml	0,615	1,5
100 U/ml	1,275	4,3
300 U/ml	2,082	3,8

Exemple de calcul

Patient	Réplicat (DO)	Moyenne (DO)	Résultat (U/ml)
P 01	1,376/1,389	1,383	122,5
P 02	0,610/0,620	0,615	33,3

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 leur contrôle qualité interne à l'aide de leurs propres contrôles et/ou pools sériques internes, conformément à la législation nationale.

Chaque laboratoire doit établir sa propre plage normale en fonction de ses techniques, de ses contrôles, de son équipement et de sa population de patients, conformément à ses propres procédures.

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.

 autoimmune diagnostic assays	Réf. du produit	10511
	Desc. du produit	Parietal cell
	N° de révision du manuel	005: 2024-03-06

9 Données techniques

Type d'échantillon :	sérum
Volume de l'échantillon :	10 µl d'échantillon dilué à 1 :101 avec tampon d'échantillon 1x
Temps d'incubation total :	90 minutes à une température située entre 20-32°C/68-89,6°F
Plage d'étalonnage :	0-300 U/ml
Sensibilité analytique :	1,0 U/ml
Stockage :	entre 2-8°C/35,6-46,4°F; utiliser uniquement les flacons d'origine.
Nombre de déterminations :	96 tests

10 Données de performance

10.1 Sensibilité analytique

Le test du tampon d'échantillon 30 fois sur la **parietal cell** a donné une sensibilité analytique de 1,0 U/ml.

10.2 Spécificité et sensibilité

Les microplaques sont enduites avec de la H⁺/K⁺-ATPase en provenance de la muqueuse gastrique du porc et hautement purifiée. Aucune réactivité croisée avec d'autres autoantigènes n'a pu être observée. Les autoanticorps anti-cellules pariétales peuvent être détectés à travers des tests d'immunofluorescence chez 80 à 90% des patients atteints d'une anémie pernicieuse, mais on peut également les trouver chez 2 à 5% des individus sains. Les systèmes de test ELISA pour la détection de ces autoanticorps montrent une sensibilité d'à peu près 80% et une spécificité d'environ 90%.

10.3 Linéarité

Les sérums sélectionnés ont été testés avec ce kit et leur dilution est linéaire. Cependant, en raison de la nature hétérogène des auto-anticorps humains, certains échantillons peuvent ne pas suivre cette règle.

N° d'échantillon	Facteur de dilution	Mesuré (U/ml)	Prévu (U/ml)	Récupération (%)
1	1 / 100	194,0	183,0	106,0
	1 / 200	95,0	91,5	103,8
	1 / 400	44,0	45,8	96,1
	1 / 800	21,0	22,9	91,7
2	1 / 100	93,0	96,0	96,9
	1 / 200	44,0	48,0	91,7
	1 / 400	26,0	24,0	108,3
	1 / 800	11,0	12,0	91,7

10.4 Précision

Afin de déterminer la précision du test, on a évalué la variabilité (intra et inter-tests) en analysant sa reproductibilité sur trois échantillons de sérum sélectionnés pour représenter une plage de la courbe standard.

Intra-essai		
N° d'échantillon	Moyenne (U/ml)	CV (%)
1	191,0	4,1
2	90,0	3,2
3	33,0	4,5






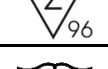













Inter-essai		
N° d'échantillon	Moyenne (U/ml)	CV (%)
1	195,0	4,5
2	96,0	3,1
3	36,0	2,8

10.5 Étalonnage

En raison de l'absence d'un étalon de référence international, ce test est étalonné en unités arbitraires (U/ml).

11 Bibliographie

Gleeson PA, van Driel IR, Toh B-H (1996) Parietal cell autoantibodies. In: Peter JB, Shoenfeld Y (eds.), Autoantibodies, pp 600-606, Elsevier, Amsterdam

	- 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
	* Numero d'ordine * Référence Catalogue * Bestellnummer * Número de catálogo	* Catalogue number * Numéro de catálogo * Αριθμός παραγγελίας
	* Descrizione lotto * Lot * Chargen Bezeichnung * Lote	* Lot * Lote * Χαρακτηρισμός παρτίδας
	* 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
	* 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 per l'uso * Voir les instructions d'utilisation * Gebrauchsanweisung beachten * Ver as instruções de uso	* See instructions for use * Ver las instrucciones de uso * Λάβετε υπόψη τις 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 * Conserver à 2-8°C * Lagerung bei 2-8°C * Conservar entre 2-8°C	* Store at 2-8°C (35.6-46.4°F) * Conservar a 2-8°C * Φυλάσσεται στους 2-8°C
	* Prodotto da * Fabriqué par * Hergestellt von * Fabricado por	* Manufactured by * Fabricado por * Κατασκευάζεται από
	* Controllo positivo * Contrôle Positif * Positiv Kontrolle * Controllo positivo	* Positive Control * Control Positivo * Θετικός ορός ελέγχου
	* Controllo negativo * Contrôle Négatif * Negativ Kontrolle * Controllo negativo	* Negative Control * Control Negativo * Αρνητικός ορός ελέγχου
	* Calibratore * Etalon * Kalibrator * Calibrador	* Calibrator * Calibrador * Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	* Coniugato * Conjugué * Konjugat * Conjugado	* Conjugate * Conjugado * Σύζευγμα
	* Micropiastra rivestita * Microplaque sensibilisée * Beschichtete Mikrotiterplatte * Microplaca revestida	* Coated microtiter plate * Microplaca sensibilizada * Επικαλυμμένη μικροτίτλακα
	* Tampone di lavaggio * Tampon de Lavage * Waschpuffer * Solução de lavagem	* Wash buffer * Solución de lavado * Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	* Tampone substrato * Substrat * Substratpuffer * Substrato	* Substrate buffer * Tampón sustrato * Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	* Reagente bloccante * Solution d'Arrêt * Stopreagenz * Solução de paragem	* Stop solution * Solución de parada * Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
	* Tampone campione * Tampon Echantillons * Probenpuffer * Diluente de amostra	* Sample buffer * Tampón Muestras * Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων