



Anticorps Anti-Facteur Intrinsèque (IF) ELISA

IVD

ENCART DU PRODUIT

REF 38101 Anticorps Anti-facteur intrinsèque ELISA 96 Tests

USAGE PREVU

Ce test ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) pour la détection et la semi-quantification des anticorps du facteur intrinsèque dans le sérum humain peut être utilisé comme aide pour le diagnostic de l'anémie pernicieuse.

RESUME ET EXPLICATIONS

L'anémie pernicieuse est une des causes les plus fréquentes de carence en Vitamine B12 (cobalamine). La carence en vitamine B₁₂ peut résulter en complications hématologiques, neurologiques et psychiatriques. Histologiquement, l'anémie pernicieuse est caractérisée par une atrophie de la muqueuse gastrique, une perte sélective de cellules pariétales et mères de la muqueuse gastrique et l'infiltration lymphocytaire sub-muqueuse. Immunologiquement, l'anémie pernicieuse se marque par la présence d'auto-anticorps des cellules pariétales gastriques, de la pompe à protons (H+K+ATPase), et de la protéine d'absorption cobalamine, le facteur intrinsèque.¹⁻³

Le facteur intrinsèque est une glycoprotéine de 60 kD produite par les cellules pariétales de la paroi de l'estomac et permet l'absorption de la vitamine B₁₂. En cas d'anémie pernicieuse acquise, il y a une diminution importante de l'expression du facteur intrinsèque due à la perte de facteur intrinsèque produit par les cellules pariétales gastriques, qui résulte dans l'incapacité pour le corps d'assimiler la vitamine B₁₂ dans l'estomac. Environ 2% de la population âgée de plus de 60 ans a une anémie pernicieuse non diagnostiquée.⁴⁻⁶

Les anticorps facteur intrinsèque sont l'isotype IgG et se retrouvent chez environ 70% des patients présentant une anémie pernicieuse.^{7,8} Les anticorps anti-cellules pariétales gastriques (AGPA) sont généralement détectés par immunofluorescence sur un substrat d'estomac de souris ou par test ELISA en utilisant du H+K+ATPase gastrique comme antigène. Ces anticorps sont le diagnostic de la gastrite auto-immune et non de l'anémie pernicieuse. Pour diagnostiquer l'anémie pernicieuse, les anticorps du facteur intrinsèque sont plus spécifiques et étroitement associés à l'anémie pernicieuse.⁸⁻¹⁰ Les anticorps facteur intrinsèque sont détectés par radio-immuno-test (RIA) ou par test ELISA.¹¹⁻¹³

Le test ELISA offre les avantages par rapport au RIA et à d'autres méthodes de dépendre de la capacité des auto-anticorps d'inhiber la liaison de la vitamine B₁₂ au facteur intrinsèque. Premièrement, ELISA détecte les anticorps de Type I et de Type II tandis que RIA ou d'autres tests d'inhibition détectent uniquement les anticorps de Type I. Deuxièmement, RIA et les autres méthodes de B₁₂ inhibant les anticorps, donnent des résultats faussement positifs vu que ces tests sont sujets aux interférences à des niveaux élevés de B₁₂. Les patients avec une suspicion de diagnostic d'anémie pernicieuse peuvent être déjà sous thérapie vitamine B₁₂ causant des niveaux élevés de B₁₂ en circulation.

Le test ELISA Anticorps Facteur Intrinsèque **Menarini**TM comprend une holoenzyme recombinante glycolysée très pure comme antigène. Ceci fournit une pureté et une antigénicité adaptées et permet que l'antigène ne soit pas lié par la vitamine B₁₂, ce qui peut interférer dans la détection des anticorps facteur intrinsèque.

PRINCIPES DU TEST

Le test est réalisé comme un test immunitaire en phase solide. Les puits sont recouverts d'antigène recombinant facteur intrinsèque humain glycolysé, suivi par une étape de blocage de l'attache protéique non spécifique durant le test. Les contrôles, le(s) étalon(s) et les sérums de patients sont incubés pour permettre aux anticorps spécifiques présents dans le sérum de se fixer aux antigènes facteur intrinsèque. Les anticorps non-liés et les autres protéines du sérum sont éliminés en rinçant les micropuits. Les anticorps liés sont détectés en ajoutant un conjugué enzymatique anti-IgG humaines aux micropuits. Le conjugué non fixé est éliminé par lavage. L'ajout du substrat enzymatique pNPP aux micropuits entraîne un changement de couleur produit par la conversion du



substrat en un produit de réaction coloré. La réaction est arrêtée et l'intensité du changement de couleur, qui est proportionnelle à la concentration de l'anticorps, est lue sur un spectrophotomètre à 405 nm. La densité optique des échantillons est comparée avec la densité optique de l'étalon (résultat qualitatif) ou avec une courbe standard à 4 points (résultat semi-quantitatif). Les résultats sont considérés positifs ou négatifs et exprimés en Unités ELISA par millilitres (EU/ml).

REACTIFS

Conservation et préparation

Conserver tous les réactifs du coffret entre 2 et 8°C. **Ne pas congeler.**

Ne pas employer le réactif s'il est trouble ou si un précipité s'est formé. Tous les réactifs doivent être portés à température ambiante (22-30°C) avant l'utilisation.

Reconstituer le tampon de lavage avec 1 litre d'eau distillée ou déionisée. Lorsqu'il est conservé entre 2 et 8°C, le tampon de lavage reconstitué est stable jusqu'à la date limite d'utilisation. Les micropuits recouverts sont à usage unique.

Précautions

Le matériel d'origine humaine utilisé dans la préparation des réactifs a été testé en respectant les recommandations de la FDA et résulte non réactif aux antigènes HBs Ag, HCV, HIV-1 et 2 et HTLV-I. Du fait qu'aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie absolue de l'absence d'agents infectieux, considérer les réactifs ainsi que tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux et les manipuler avec les précautions d'usage¹⁴.

ATTENTION - Certains réactifs contiennent de l'azide de sodium (NaN₃). Ce composé peut former dans les canalisations en plomb ou en cuivre des azotures métalliques hautement explosifs. Afin d'éviter la formation et l'accumulation de tels azotures dans les canalisations, rincer l'évier à grande eau lors de l'élimination de ces réactifs. L'azide de sodium est toxique en cas d'ingestion. En cas d'ingestion, informer immédiatement le responsable du laboratoire et contacter le centre antipoison.

La qualité des résultats dépend du respect des instructions figurant dans la présente notice. Ne pas échanger des réactifs du kit par d'autres provenant d'autres fabricants. Respecter les techniques de laboratoire réduisant au minimum la contamination microbienne et chimique. Ne pas utiliser au-delà de la date de péremption se trouvant sur l'étiquette.

Matériel fourni

Menarini™ Anticorps Anti-facteur intrinsèque ELISA REF 38101

Le kit contient les réactifs suffisants pour effectuer 96 tests chacun.

12 x 8	MICROPLATE IF	Micro-lamelles avec micropuits individuels, revêtus d'antigène facteur intrinsèque humain recombinant.
1 x 1,5 ml	CALIBRATOR A IF *	Etalon A (couverture verte) , prêt à l'emploi. Sérum humain contenant les anticorps à l'antigène facteur intrinsèque.
1 x 1,5 ml	CALIBRATOR B IF *	Etalon B (couverture violette) , prêt à l'emploi. Sérum humain contenant les anticorps à l'antigène facteur intrinsèque.
1 x 1,5 ml	CALIBRATOR C IF *	Etalon C (couverture bleue) , prêt à l'emploi. Sérum humain contenant les anticorps à l'antigène facteur intrinsèque.
1 x 1,5 ml	CALIBRATOR D IF *	Etalon D (couverture jaune) , prêt à l'emploi. Sérum humain contenant les anticorps à l'antigène facteur intrinsèque.
1 x 1,5 ml	CONTROL + IF *	Contrôle positif (couverture rouge) , prêt à l'emploi. Contient sérum humain positif aux anticorps anti -facteur intrinsèque



1 x 1,5 ml	CONTROL - *	Contrôle négatif (<i>couvercle blanc</i>), prêt à l'emploi. Contient sérum humain.
1 x 12 ml	IgG-CONJ ALKPHOS *	Conjugué Alk. phos. anti-IgG humaines. Code couleur rose.
1 x 60 ml	DIL *	Diluant pour sérum prêt à l'emploi. Code couleur bleue.
1 x 12 ml	SUBSTRATE *	Substrat enzymatique prêt à l'emploi. Contient du pNPP. Protéger de la lumière.
1 x 12 ml	STOP	Solution d'arrêt prête à l'emploi.
2 x	BUF WASH	Tampon de lavage en poudre. Reconstituer pour 1 litre/flacon.

* Contient <0.1% NaN₃

Symboles utilisés sur les étiquettes:

-  Numéro de lot
-  Numéro de référence catalogue
-  A utiliser avant
-  Température de conservation
-  Lire les instructions d'utilisation
-  Pour usage diagnostique In vitro
-  Fabricant
-  Nombre de tests

Matériel nécessaire mais non fourni

- Eau distillée ou déionisée
- Pissette pour le tampon de lavage dilué
- Pipettes de 5 à 1000 µl
- Bouts de pipette jetables
- Petits tubes propres 12 X 75 mm et porte-tubes
- Timer
- Papier absorbant
- Lecteur ELISA avec filtre de 405nm. Si la longueur d'onde double est disponible, le filtre de référence sera de 600-650 nm.
- Bac pour le lavage automatique capable de dispenser 200 µl

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Utiliser uniquement du sérum pour réaliser ces tests. Il est recommandé de ne pas utiliser de sérums fortement hémolysés, lipémiques ou sujets à une contamination bactérienne car cela peut provoquer des interférences et modifier les performances du test. Conserver les sérums entre 2 et 8°C pendant maximum une semaine. Pour une conservation plus longue, congeler les sérums à -20°C. Eviter les congélations/décongélations successives des sérums.

PROCEDURE

METHODE

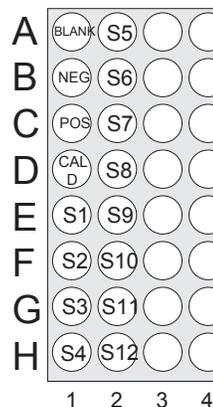
Préparation du test

- Lire ces instructions attentivement avant de commencer l'analyse.
- Prélever rapidement les micro-lamelles dans le récipient contenant le dessiccateur, refermer hermétiquement pour minimiser toute exposition à l'humidité. Replacer immédiatement le récipient au réfrigérateur.
- Laisser le substrat enzymatique s'équilibrer à la température de la pièce avant utilisation. Replacer les produits au réfrigérateur juste après l'utilisation.
- Préparer toutes les dilutions des échantillons patients avant de commencer le test.
- **Il est important d'utiliser une bonne technique de lavage.** Si l'opération est réalisée manuellement, diriger un jet puissant de vapeur de tampon de lavage froid à l'aide d'une large bouteille sur toute la superficie de la micro-lamelle. **Il est recommandé d'utiliser un bac de lavage des micro-lamelles automatique.**
- Utiliser une pipette multicanaux capable de remplir 8 ou 12 puits simultanément. Ceci rend le processus plus rapide et fournit un temps d'incubation plus uniforme.
- La synchronisation est importante. Les périodes d'incubation commencent après la distribution des réactifs.
- L'ajout de tous les échantillons et réactifs doit être réalisé à la même cadence et selon la même séquence. Chaque période d'incubation doit être mesurée indépendamment de la précédente.

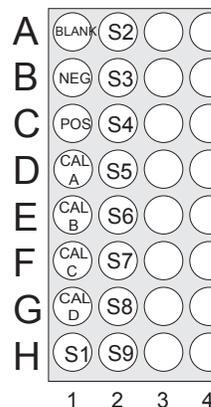
Exécution du test

- Etape 1** Laisser tous les réactifs et les échantillons s'équilibrer à la température ambiante.
- Etape 2** Indiquer sur une feuille du protocole la position des échantillons sur la micro-lamelle. Il est de bonne pratique de vérifier les échantillons en double.
- Etape 3** **Détermination qualitative :** employer uniquement l'étalon D. (*flacon avec couvercle jaune*).
ou Détermination semi-quantitative : employer étalons A - D comme montré dans l'exemple ci-dessous.

DÉTERMINATION QUALITATIVE



DÉTERMINATION SEMI-QUANTITATIVE



- Etape 4** Préparer une dilution de **1:101** de l'échantillon patient en mélangeant **5 µl** de l'échantillon patient à **500 µl** de diluant sérum.
- Etape 5** Prélever les micro-lamelles nécessaires du récipient et replacer les lamelles non utilisées dans le récipient scellé au réfrigérateur. Placer les micro-lamelles sur le support fourni.
- Etape 6** Pipeter **100 µl** des Etalons, de Contrôles positifs et négatifs et des échantillons patients (**1:101**) prêts à l'emploi dans les micropuits comme indiqué sur la feuille de protocole.



Note: Inclure un puit avec **100 µl** de diluant pour échantillons comme blanco de réactif. La lecture ELISA de ce blanco devrait être nulle.

- Etape 7** Incuber pendant **30 minutes** (± 5 min) à température ambiante.
- Etape 8** Laver **4x** avec de la solution de lavage **froide**. Pour le lavage à la main, remplir chaque micropuit avec de la solution de lavage reconstituée. Aspirer le contenu de chaque puit. Retourner la microlamelle et vider par petits coups sur du papier absorbant. Pour le lavage automatique, s'en tenir aux instructions du fabricant.
- Etape 9** Pipeter **100 µl** de Conjugué dans les micropuits.
- Etape 10** Incuber pendant **30 minutes** (± 5 min) à température ambiante.
- Etape 11** Rincer tous les micropuits comme à l'étape 8.
- Etape 12** Pipeter **100 µl** de Substrat Enzymatique dans chaque micropuit dans le même ordre et timing que pour le conjugué.
- Etape 13** Incuber pendant **30 minutes** (± 5 min) à température ambiante.
- Etape 14** Pipeter 100 µl de **solution d'arrêt** dans chaque puit. 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 substrat enzymatique. Lire la densité optique dans l'heure qui suit l'arrêt de la réaction.
- Etape 15** Lire la densité optique de chaque puit à **405nm** en utilisant un lecteur simple ou à longueur d'onde double à **405/630nm**. Le zéro ELISA est la valeur du blanco.

Contrôle Qualité

Les étalons, les Contrôles positifs et négatifs et un blanco de réaction doivent être utilisés dans chaque test pour vérifier l'intégrité et la précision du test. La lecture de densité optique du blanco doit être inférieure à 0.3. L'étalon A ne doit pas avoir une lecture d'absorbance de moins de 1.0, sinon il faut répéter le test. Le contrôle négatif doit être < 20 EU/ml. Si le test est effectué en double, la moyenne des deux lectures doit être prise en considération pour déterminer les EU/ml. Lors de déterminations qualitatives, la densité optique de l'étalon D doit être plus grande que celle du contrôle négatif et plus petite que celle du contrôle positif. Pour des déterminations semi-quantitatives, le contrôle positif doit donner des valeurs se trouvant dans la gamme figurant sur le flacon.

RESULTATS

Calculs

Les concentrations des échantillons patients peuvent être déterminées par l'une ou l'autre de ces deux méthodes :

1. DETERMINATION QUALITATIVE

Abs. de l'échantillon

----- X EU/ml de l'étalon D = EU/ml de l'échantillon

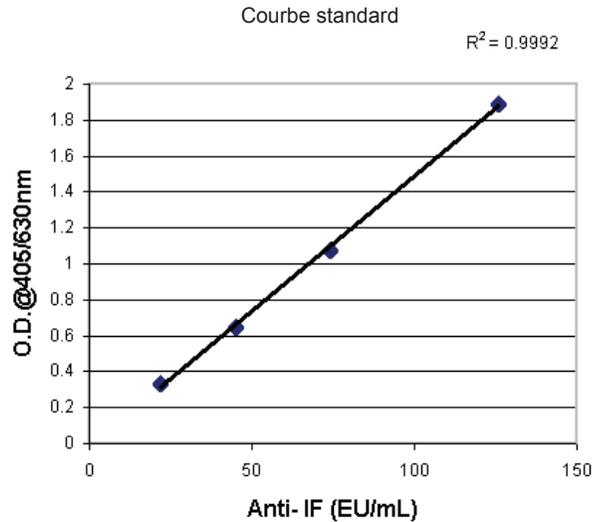
Abs, de l'étalon D

Exemple: Absorbance Echantillon = 1.0
 Absorbance Etalon D = 0.26
 Etalon D EU/ml = 20 EU/ml
 Echantillon EU/ml = $1.0 / .26 \times 20 = 76.9$ EU/ml

2. DETERMINATION SEMI-QUANTITATIVE

Tracer l'absorbance des étalons A à D par rapport à leur concentration respective sur un graphique linéaire. Tracer la concentration en EU / ml sur l'axe des X et l'absorbance sur l'axe Y et dessiner la courbe la plus proche.

Déterminer les concentrations des échantillons patients provenant de la courbe par leurs valeurs correspondantes d'absorbance. Un exemple de courbe se trouve ci-dessous :



Etalons

Les étalons sont fournis pour une détermination semi-quantitative et doivent être employés lors de chaque test. Les échantillons patients contenant les niveaux les plus élevés d'anticorps peuvent donner des valeurs d'absorbance plus grandes que celles de l'étalon A. Pour la détermination des valeurs semi-quantitatives précises de tels échantillons, il faut les diluer et les retester jusqu'à ce que les résultats puissent être lus sur la courbe d'étalonnage. Pour la détermination en EU / ml, multiplier les unités obtenues par le facteur de dilution.

Interprétation

Les valeurs d'interprétation ont été déterminées en testant 40 donneurs de sang adultes sains. La moyenne des sujets sains plus 3SD a été établie pour la valeur limite du test et une valeur arbitraire de 20 EU/ml a été assignée. Cette étude a été initialement validée avec une population normale de 30 patients dans la gamme d'âge à risque pour l'anémie pernicieuse. A. Menarini Diagnostics S.r.l. suggère l'utilisation de la gamme de référence ci-dessous. Chaque laboratoire devrait valider les résultats en fonction de ses propres conditions.

valeur anti-IF	Interprétation
<20 EU/ml	Négatif
20-25 EU/ml	Indéterminé (Limite)
>25 EU/ml	Positif

LIMITES D'UTILISATION

Utiliser uniquement du sérum pour réaliser ces tests. Il est recommandé de ne pas utiliser de sérums fortement hémolysés, lipémiques ou sujets à une contamination bactérienne car cela peut provoquer des interférences et modifier les performances du test. Conserver les sérums entre 2 et 8°C pendant maximum une semaine. Pour une conservation plus longue, congeler les sérums à -20°C. Eviter les congélations/décongélations successives des sérums.

Les auto-anticorps anti-facteur intrinsèque peuvent être présents en association avec d'autres maladies auto-immunes mais rarement chez des sujets sains. Un résultat anticorps anti-facteur intrinsèque négatif n'élimine pas forcément la présence d'anémie pernicieuse. Un résultat anticorps anti-facteur intrinsèque négatif n'élimine pas forcément la présence de l'anticorps car la concentration de l'anticorps peut être sous la limite de détection du test.



Un résultat de test positif indique la présence d'anticorps anti-facteur intrinsèque mais n'indique pas forcément la présence de maladie auto-immune ou autre. Les caractéristiques de performance du test n'ont pas été établies pour d'autres matrices que le sérum. Les résultats obtenus par ce test doivent être considérés en conjonction avec des faits cliniques et de laboratoire tels que le niveau de B₁₂ et le test de Schilling.

VALEURS ATTENDUES

Les résultats de test dans une population saine sont négatifs. Cependant, 0.1% - 0.2% de personnes apparemment en bonne santé et ne présentant aucun symptôme, peuvent être positifs lors de la recherche des anticorps anti-facteur intrinsèque.

Le tableau suivant présente l'incidence des anticorps anti-facteur intrinsèque chez les individus souffrant d'anémie pernicieuse comme signalé dans la littérature.

Prévalence des Anticorps Anti-Facteur Intrinsèque dans les cas d'Anémie Pernicieuse

Etude	Nbre de Patients	Anticorps Anti-Facteur Intrinsèque
Carmel 1 ¹⁵	34	78-88%
Carmel 2 ¹⁶	147	73%
Davidson ¹⁷	324	70%

Caractéristiques des performances

Le test ELISA Anticorps Anti-Facteur Intrinsèque Menarini™ pour la détection des anticorps anti-facteur intrinsèque a été évalué en testant des sérums bien caractérisés provenant de patients souffrant d'anémie pernicieuse durant des contrôles de maladie et des sérums humains « sains » comme indiqué dans les études A et B ci-dessous. Ces échantillons ont également été testés sur d'autres kits disponibles dans le commerce et les résultats ont été comparés. Des échantillons ont été obtenus à partir de laboratoire de référence utilisant la méthode RIA et à partir de groupes de recherche étudiant les carences en cobalamine.

Gamme Normale: 64 sérums humains sains ont été testés par la méthode ELISA Anticorps anti-facteur intrinsèque et la moyenne a été de moins de 9 EU/ml.

Comparaison Sensibilité et Spécificité

A. Corrélation Clinique: Le test ELISA Anticorps Anti-Facteur Intrinsèque Menarini™ a été testé avec des sérums bien caractérisés de patients souffrant d'anémie pernicieuse : Un total de 110 échantillons ont été testés avec le test ELISA Menarini™, y compris 20 échantillons d'anémie pernicieuse, 20 contrôles sains et 70 contrôles de patients avec de l'arthrite rhumatoïde, maladie coeliaque, thyroïdite de Hashimoto, maladie de Graves, des niveaux élevés d'anticorps *H. pylori* et l'hépatite C.

DIAGNOSTIQUE CLINIQUE

		Positif	Négatif	Total
Menarini™ IF ELISA	Positif	20	5	25
	Négatif	0	85	85
	Total	20	90	110

Sensibilité Clinique: 100%

Spécificité Clinique: 94%

Valeur de Prédiction Positive: 80%

Valeur de Prédiction négative: 100%

B. Le test ELISA Anticorps Anti-Facteur Intrinsèque Menarini™ vs. un test disponible dans le commerce de radio-immuno-test (RIA): Un total de 47 échantillons ont été testés sur les deux systèmes, y compris 33 cas suspectés d'anémie pernicieuse et 14 contrôles sains. Cette étude montre une corrélation étroite chez les patients avec des niveaux de B12 faibles, ce qui indique des patients souffrant d'anémie pernicieuse, mais une faible corrélation chez



les patients avec des niveaux normaux ou élevés de B12, qui peut indiquer des patients suivant une thérapie B12. La thérapie B12 est connue pour générer des faux positifs sur les systèmes RIA.¹³

i. Tous les échantillons:

		RIA		
		Positif	Négatif	Total
Menarini™	Positif	16	0	16
ELISA	Négatif	17	14	31
	Total	33	14	47

Concordance Relative: 64%
 Pourcentage Concordance Positive: 48%
 Pourcentage Concordance Négative: 100%

ii. Patients suspectés d'anémie pernicieuse avec des niveaux bas de B12 (<200pg/ml):

		RIA		
		Positif	Négatif	Total
Menarini™	Positif	13	0	13
ELISA	Négatif	0	0	0
	Total	13	0	13

Concordance Relative : 100%
 Pourcentage Concordance Positive: 100%
 Pourcentage Concordance Négative: 100%

iii. Patients suspectés d'anémie pernicieuse avec des niveaux élevés de B12 (>2000pg/ml):

		RIA		
		Positif	Négatif	Total
Menarini™	Positif	3	0	3
ELISA	Négatif	17	0	17
	Total	20	0	20

Concordance Relative : 15%
 Pourcentage Concordance Positive: 15%
 Pourcentage Concordance Négative: 100%

iv. Contrôles:

		RIA		
		Positif	Négatif	Total
Menarini™	Positif	0	0	0
ELISA	Négatif	0	14	14
	Total	0	14	14

Concordance Relative : 100%
 Pourcentage Concordance Positive: 100%
 Pourcentage Concordance Négative: 100%



C. Réactivité Croisée: Un total de 111 échantillons risquant potentiellement une réaction croisée à partir d'individus avec des désordres auto-immune ou des maladies infectieuses ont été testés pour les anticorps IF en utilisant les système de test Menarini™.

Condition	#Testé	% Positif
Arthrite Rhumatoïde	10	0%
Maladie Coeliaque	10	0%
Thyroïdite de Hashimoto	10	0%
Maladie de Graves	10	0%
Positif <i>H. Pylori</i>	11	0%
Positif Hépatite C	20	0%
Sérums humains sains	40	0%

Précision

Basé sur 40 répétitions de 3 échantillons au cours d'une analyse, le Coefficient de Variation (CV) inter-test pour les anticorps IF du test ELISA a été calculé.

Echantillon (EU/ml)	CV Inter-test
1 (24,9 EU/ml)	4,6%
2 (50,3 EU/ml)	4,7%
3 (89,7 EU/ml)	1,2%

Basé sur 16 répétitions (échantillons 1 et 2) ou 8 répétitions (échantillon 3) de 3 échantillons, le Coefficient de Variation (CV) intra-test pour les anticorps IF du test ELISA a été calculé.

Echantillon (EU/ml)	CV Intra-test
1 (26,3 EU/ml)	4,6%
2 (46,7 EU/ml)	3,0%
3 (83,1 EU/ml)	2,6%

Linéarité

Pour déterminer les limites d'acceptation de la linéarité, les lamelles ont été testées avec un set d'étalons produit en utilisant des doubles dilutions à partir de 20 EU/ml jusqu'à 160 EU/ml. Les valeurs r^2 des courbes standards résultantes ont été déterminées pour des test multiples. Une valeur r^2 plus grande que 0.95 est considérée comme acceptable. La valeur moyenne r^2 pour ce test était plus grande que 0.99. Les valeurs r^2 se trouvent entre 0.9935 et 0.9999.

Recouvrement

Pour chaque test, deux échantillons discrets de volume égal avec des niveaux connus en anticorps anti-facteur intrinsèque ont été mélangés. La concentration en anticorps du mélange devant être la moyenne des concentrations en anticorps des échantillons. Les niveaux d'anticorps des échantillons mélangés ont été déterminés et utilisés pour calculer le pourcentage de recouvrement. Le résultat est le suivant:

Anti-IF	Ab. conc. attendue (EU/ml)	Ab. conc. obtenue (EU/ml)	% Recouvrement
Test 1	30	27	90
Test 2	45	42	93
Test 3	40	41	103
Test 4	75	60	80
Test 5	47	43	92
Test 6	42	42	100
Test 7	57	59	104
Test 8	76	73	96



REFERENCES • BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ • LITERATUR • BIBLIOGRAPHIE • BIBLIOGRAFIA

1. Gleeson PA et al. Molecular targets in pernicious anaemia. *Immun Today*. 1991; 12:1001-1006.
2. Whittingham S et al. Autoimmune gastritis: historical antecedents, outstanding discoveries, and unresolved problems. *Int Rev Immunol*. 2005;24:1-29.
3. Mårdh S et al. Diagnosis of gastritis by means of a combination of serological analyses. *Clinica Chimica Acta*. 2002; 320: 17-27.
4. Carmel R. Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. *Clin exp Immunol*. 1992; 89:74-77.
5. Carmel R. Prevalence of undiagnosed pernicious anemia in the elderly. *Arch Intern Med*. 1996; 156:1097-1100.
6. Uibo R. Contribution of epidemiological studies to gastritis immunology. *Int Rev Immunol*. 2005;24:31-54.
7. Marcoullis G et al. Blocking and binding type antibodies against all major vitamin B12-binders in a pernicious anaemia serum. *British Journal of Haematology*. 1979; 43: 15-26.
8. Waters HM et al. High incidence of type II autoantibodies in pernicious anaemia. *J Clin Pathol*. 1993; 46:45-47.
9. Roitt JM et al. Intrinsic-factor autoantibodies. *Lancet*. 1964; 2:469-470.
10. Toh B et al. Pernicious Anemia. Autoimmunity. 2004; 37: 357-361.
11. Muckerheide M et al. Studies on a radioassay for intrinsic factor antibody: comparison of methods and false positive results due to elevated serum B12 levels. *Am J Clin Pathol*. 1984; 82:300-304.
12. Waters HM et al. New enzyme immunoassay for detecting total, type I and type II intrinsic factor antibodies. *J Clin Pathol*. 1989; 42:307-312.
13. Gomez E. Development and validation of an automated chemiluminometric immunoassay for human intrinsic antibodies in human serum. *Clin Chem*. 2005; 51 (1): 232-235.
14. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control, National Institutes of Health [HHS Pub. No. (CDC) 93-8395], 1993.
15. Carmel R. Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. *Clin exp Immunol*. 1992; 89:74-77.
15. Carmel R. Pepsinogens and other serum markers in pernicious anemia. *Am J Clin Pathol*. 1988; 90:442-445.
16. Davidson RJL et al. Longitudinal study of circulating gastric antibodies in pernicious anaemia. *J Clin Pathol*. 1989; 42:1092-1095.



 **A. Menarini Diagnostics S.r.l.**
via Sette Santi 3
50131 Firenze
Italia

EL

Διανέμεται στην
ΕΛΛΑΔΑ από την
A. Menarini Diagnostics S.A.
575, Vouliagmenis Ave.
16451 Argypopolis
Attiki

AT

ÖSTERREICH
Vertrieb durch
A. Menarini Ges.m.b.H
Pottendorfer Straße, 25/27
A - 1120 Wien

BE

BELGIQUE
Distribué par
A. Menarini Diagnostics
Benelux S.A./N.V.
Belgicastaat, 4
1930 Zaventem

PT

PORTUGAL
Distribuido por
A. Menarini Diagnósticos, Lda
Quinta da Fonte
Edifício D.Manuel I, 2ºB
2770-203 Paço de Arcos

NL

NEDERLAND
Distributed by
A. Menarini Diagnostics
Benelux N.V.
De Haak, 8
5555 XK Valkenswaard

Date of issue: March 2007
Data de publicação: Março de 2007
Ausgabedatum: März 2007
Date d'émission : Mars 2007
Ημερομηνία έκδοσης: Μάρτιος 2007

Document No. PI4164 M

