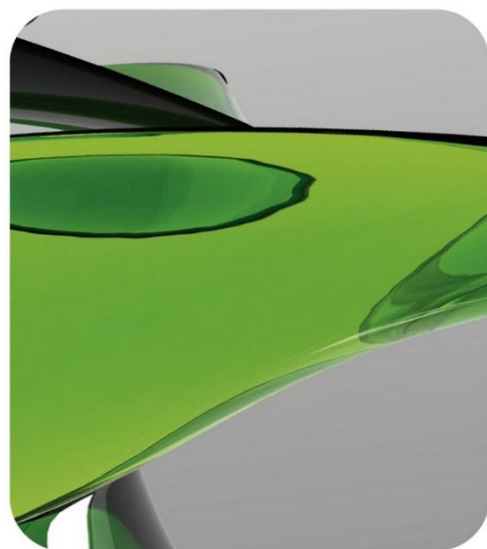




**AESKU.DIAGNOSTICS**

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



**AESKULISA®**

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

# INSTRUCTION MANUAL

**AESKULISA® tTg-G New Generation**

*Ref 3504*







|                 |                      |
|-----------------|----------------------|
| Product Ref.    | <b>3504</b>          |
| Product Desc.   | tTg-G New Generation |
| Manual Rev. No. | 006: 2025-02-18      |

## Istruzioni per l'uso

### Indice

---

|    |                                                          |    |
|----|----------------------------------------------------------|----|
| 1  | Finalità d'uso.....                                      | 1  |
| 2  | Applicazione clinica e principio del test .....          | 1  |
| 3  | Componenti del kit .....                                 | 2  |
| 4  | Conservazione e stabilità .....                          | 2  |
| 5  | Avvertenze e misure precauzionali .....                  | 3  |
| 6  | Prelievo dei campioni, preparazione e conservazione..... | 4  |
| 7  | Esecuzione del test.....                                 | 4  |
| 8  | Analisi quantitativa e qualitativa .....                 | 7  |
| 9  | Dati tecnici .....                                       | 8  |
| 10 | Dati del test/Caratteristiche del test.....              | 8  |
| 11 | Bibliografia.....                                        | 11 |
| 12 | Simboli normativi .....                                  | 12 |



## 1 Finalità d'uso

**AESKULISA® tTg-G New Generation** è un test immunoenzimatico in fase solida per la determinazione quantitativa e qualitativa di anticorpi IgG anti-neoepitopi della transglutaminasi tissutale ricombinante umana (tTg) nel siero umano. L'impiego di transglutaminasi tissutale ricombinante umana e di peptidi specifici della gliadina rende disponibili neoepitopi di tTg e consente quindi di ottenere un notevole incremento della sensibilità e specificità del test. Questo test serve per diagnosticare e monitorare la celiachia (enteropatia sensibile al glutine).

## 2 Applicazione clinica e principio del test

L'enteropatia sensibile al glutine (celiachia) è caratterizzata da un'atrofia dei villi intestinali con conseguente appiattimento della mucosa. Causa di questa malattia è un'intolleranza patologica nei confronti della gliadina. La gliadina è la frazione solubile in alcol del glutine, un componente del frumento, della segale e dell'orzo.

La celiachia viene indotta dall'assunzione di glutine. Come terapia occorre osservare per tutta la vita una dieta priva di glutine, poiché i sintomi possono sempre ricomparire in caso di nuova assunzione di glutine. La celiachia è HLA associata e circa il 95% dei pazienti celiaci presenta il DQ2 codificato da DQA1\*0501 e DQB1\*0201. La malattia può manifestarsi in tutte le fasce d'età, più frequentemente tuttavia nell'infanzia precoce, parzialmente già nei neonati. In Europa l'incidenza si aggira intorno a 1/4000 - 1/300.

La diagnosi definitiva, con determinazione della tipica mucosa piatta, viene effettuata mediante biopsia dell'intestino tenue accompagnata da marcatore sierologico. Gli anticorpi anti-gliadina e anti-endomisio (anticorpi endomisiali; EMA) sono di notevole importanza per la celiachia. Vengono individuati nel test indiretto per immunofluorescenza (IFT), sebbene questo test sia limitato alla determinazione di anticorpi della sottoclasse IgA. L'identificazione della tTG come antigene target principale degli EMA ha permesso una diagnosi più facile e affidabile della celiachia. La tTG è un enzima che viene liberato, fra l'altro, in caso di danno cellulare e che è implicato nella riparazione tissutale.

Gli anticorpi anti-tTG presentano una maggiore sensibilità e specificità per la celiachia rispetto agli anticorpi anti-gliadina e, inoltre, sono strettamente correlati all'attività della malattia. Sono pertanto perfettamente idonei al monitoraggio della dieta. La formazione di legami incrociati della tTG con i peptici specifici della gliadina induce la formazione di neoepitopi nella tTG. Poiché i neoepitopi sono strutturalmente più simili agli epitopi fisiologici rispetto agli antigeni finora utilizzati, i test AESKULISA tTg di nuova generazione permettono di ottenere una sensibilità e specificità nettamente migliore. Questi epitopi non presentano reazioni crociate con la gliadina.

La determinazione di anticorpi anti-tTG della sottoclasse IgG è molto importante soprattutto per il 2%-5% dei pazienti che presentano una carenza di IgA e nei quali, pertanto, gli anticorpi anti-tTG non possono essere individuati tramite la determinazione di IgA. Recenti studi con anticorpi anti-tTg hanno messo in luce una moltitudine di casi subclinici di celiachia. Questo fatto va a supporto della teoria secondo la quale la maggioranza dei casi di celiachia, soprattutto in età adulta, rimane celata e quindi anche non curata (modello di Eisberg).

### Principio del test

I campioni di siero diluiti 1:101 vengono incubati nei pozzetti sensibilizzati con l'antigene specifico. Gli anticorpi specifici nel siero del paziente, se presenti, si legano all'antigene legato alla fase solida; i componenti del siero non legati vengono separati nella successiva fase di lavaggio. Vengono quindi aggiunte immunoglobuline anti-immunoglobuline umane, marcate con perossidasi di rafano (coniugato), che, durante l'incubazione, si legano al complesso antigene-anticorpo precedentemente formatosi. Le immunoglobuline non legate vengono allontanate nella successiva fase di lavaggio. L'aggiunta di un cromogeno (TMB), provoca la formazione di un complesso colorato in blu; la successiva aggiunta di una soluzione acida provoca il blocco della reazione enzimatica e il viraggio del colore da blu a giallo. L'intensità del colore formato, misurata a 450 nm, è direttamente proporzionale alla concentrazione di anticorpi anti-antigena in standard, campioni e controlli.

### 3 Componenti del kit

| <b>DA DILUIRE PRIMA DELL'USO</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                 |                  |                        |                                                                                                                                                                          |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|------------------|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Componente                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Quantità        | Colore del tappo | Colore della soluzione | Descrizione / Componenti                                                                                                                                                 |
| Tampone per la diluizione dei campioni (5x)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 1 da 20 mL      | Bianco           | Giallo                 | concentrato 5 x Tris, cloruro di sodio (NaCl), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide > 0,1 % (conservante)                                                          |
| Tampone di lavaggio (50x)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 1 da 20 mL      | Bianco           | Verde                  | concentrato 50 x Tris, NaCl, Tween 20, sodio azide > 0,1 % (conservante)                                                                                                 |
| <b>PRONTI PER L'USO</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                 |                  |                        |                                                                                                                                                                          |
| Componente                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | Quantità        | Colore del tappo | Colore della soluzione | Descrizione / Componenti                                                                                                                                                 |
| Controllo negativo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 1 da 1,5 mL     | Verde            | Incolore               | materiali di controllo (diluito), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide < 0,1 % (conservante)                                                                       |
| Controllo positivo                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | 1 da 1,5 mL     | Rosso            | Giallo                 | materiali di controllo (diluito), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide < 0,1 % (conservante)                                                                       |
| Calibratore cut-off                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | 1 da 1,5 mL     | Blu              | Giallo                 | materiali di calibratore (diluito), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide < 0,1 % (conservante)                                                                     |
| Calibratori                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 6 da 1,5 mL     | Bianco           | Giallo *               | Concentrazione di ciascun calibratore: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/mL. materiali di calibratore (diluito), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide < 0,1 % (conservante) |
| Coniugato, IgG                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | 1 da 15 mL      | Blu              | Blu                    | Componente: Immunoglobuline coniugate con perossidasi di rafano, albumina sierica bovina (BSA)                                                                           |
| Substrato TMB                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | 1 da 15 mL      | Nero             | Incolore               | Tetrametilbenzidina stabilizzata e perossido di idrogeno (TMB/H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )                                                                            |
| Soluzione di stop                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 1 da 15 mL      | Bianco           | Incolore               | Acido cloridrico 1 M                                                                                                                                                     |
| Microstrip                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | 12 x 8 pozzetti | Nds              | Nds                    | Con pozzetti frazionabili singolarmente. Per il rivestimento si veda il punto 1.                                                                                         |
| * Il colore si intensifica con la concentrazione                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                 |                  |                        |                                                                                                                                                                          |
| <b>MATERIALE OCCORRENTE, MA NON FORNITO</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |                 |                  |                        |                                                                                                                                                                          |
| Lettore di piastre microtitolo da 450 nm per la lettura dei filtri e filtri di riferimento raccomandati da 620 nm (600-690 nm). Recipienti in vetro (cilindri da 100-1000 mL), provette da test per diluizioni. Mixer Vortex, pipette di precisione (10, 100, 200, 500, 1000 µL) o pipette multiple regolabili (100-1000 µL). Dispositivo di lavaggio delle micropiastre (pipetta ripetitrice o multicanale da 300 µL o sistema automatizzato), carta assorbente. I nostri test sono stati studiati per essere eseguiti con acqua depurata, conformemente alle disposizioni della Farmacopea degli Stati Uniti (USP 26 - NF 21) e della Farmacopea Europea (Eur.Ph. 4a ed.). |                 |                  |                        |                                                                                                                                                                          |

### 4 Conservazione e stabilità

I reagenti del kit e la micropiastre devono essere conservati a 2-8 °C/35,6-46,4 °F nei rispettivi flaconi originali. Le soluzioni diluite sono stabili per un mese a 2-8 °C/35,6-46,4 °F. Rispettare le date di scadenza specificate sulla confezione e sulle etichette dei singoli componenti.

Non utilizzare componenti scaduti! Evitare di esporre la soluzione di substrato TMB alla luce diretta. Conservare le micropiastre sempre chiuse nella relativa pellicola d'imballaggio provvista di bustina di agente essiccante.

## 5 Avvertenze e misure precauzionali

### 5.1 Rischio per la salute

**QUESTO PRODOTTO DEVE ESSERE UTILIZZATO ESCLUSIVAMENTE PER DIAGNOSI IN VITRO.** L'impiego è riservato al personale che è stato debitamente informato e istruito sull'uso della diagnosi in vitro. Sebbene questo prodotto non sia considerato particolarmente tossico o pericoloso nelle normali condizioni d'uso, attenersi a quanto segue per la massima sicurezza.

#### **Raccomandazioni e misure precauzionali**

I componenti del kit contengono reagenti potenzialmente irritanti per occhi, mucose o cute.

**ATTENZIONE!** Calibratori, trattamenti e tamponi contengono sodio azide ( $\text{NaN}_3$ ) come conservante.  $\text{NaN}_3$  può risultare tossico se ingerito o assorbito attraverso la pelle o gli occhi.  $\text{NaN}_3$  può reagire con piombo e rame formando azidi metallici altamente esplosivi. Dopo averlo gettato, risciacquare con una grande quantità di acqua per impedire la formazione di azidi. Si prega di fare riferimento alle procedure di decontaminazione citate dal CDC o a altre linee guida locali o nazionali.

**Non mangiare, bere o fumare durante la manipolazione del kit. Non utilizzare pipette a bocca. Indossare guanti monouso.**

I reagenti di origine biologici contenuti in questo kit (controlli e calibratori) sono stati testati e trovati negativi per l'antigene superficiale dell'epatite B (HbsAg), l'epatite C e l'HIV 1 e 2. Tuttavia, nei prodotti di origine biologici non si può escludere con assoluta sicurezza la presenza degli agenti patogeni indicati o di altri agenti patogeni, eventualmente non ancora noti o diagnosticati. Pertanto i controlli, i calibratori e i sieri dei pazienti sono da considerarsi potenzialmente infettivi e, di conseguenza, da manipolarsi secondo le disposizioni vigenti.

Il kit contiene le sostanze di origine animale indicate nella tabella dei componenti. Maneggiare nel rispetto delle normative nazionali.

### 5.2 Avvertenze di natura generale

Se le informazioni sul prodotto, etichette incluse, risultassero mancanti o inesatte contattare il produttore o il fornitore del kit.

Non mischiare o sostituire controlli, calibratori, coniugati o micropiastre con differenti numeri di lotto. Questo potrebbe portare a variazioni nei risultati.

Prima di cominciare il test portare tutti i componenti del kit a temperatura ambiente (20-32 °C/68-89,6 °F) e miscelarli accuratamente. Rispettare rigorosamente il protocollo prescritto per l'esecuzione del test.

**Incubazione: in sistemi automatizzati si raccomanda di eseguire il test a 30 °C/86 °F.**

Non esporre mai i singoli componenti del kit a temperature superiori a 37 °C/98,6 °F.

Dispensare la soluzione di substrato sempre con puntali nuovi per evitare eventuali contaminazioni. Evitare di esporre la soluzione di substrato alla luce solare diretta. Non dispensare mai la soluzione di coniugato con puntali contaminati da altri reagenti.

**La diagnosi clinica definitiva non deve basarsi esclusivamente sui risultati di questo test, ma deve essere formulata dal medico tenendo conto di tutti i risultati clinici e di altri esami di laboratorio. La diagnosi deve essere verificata sulla base di diversi metodi diagnostici.**

## 6 Prelievo dei campioni, preparazione e conservazione

Si raccomanda l'impiego di campioni di siero appena prelevati. Il prelievo di sangue deve avvenire secondo le disposizioni vigenti. Non utilizzare campioni di siero itterici, lipemici, emolizzati o batteriologicamente contaminati. Centrifugare i campioni torbidi (<1000 x g). Prelevare i campioni di sangue in provette pulite, asciutte e vuote.

Dopo la separazione, i campioni di siero devono essere utilizzati entro 8 ore, oppure possono essere conservati, accuratamente sigillati, fino a 48 ore ad una temperatura compresa tra 2-8 °C/35,6-46,4 °F o congelati a -20 °C/-4 °F per periodi più lunghi.

## 7 Esecuzione del test

### 7.1 Preparazione

#### **Diluizione dei reagenti concentrati:**

Diluire il tampone concentrato per la diluizione dei campioni 1:5 con acqua distillata (ad es. 20 mL e 80 mL).

Diluire i tamponi di lavaggio concentrati 1:50 con acqua distillata (ad es. 20 mL e 980 mL).

Per evitare errori si consiglia di contrassegnare i tappi dei diversi calibratori.

#### **Diluizioni dei campioni dei pazienti:**

Diluire i campioni di siero 1:101 con tampone campione diluito (1x) e miscelare (ad es. 1000 µL di tampone concentrato per la diluizione dei campioni + 10 µL di siero).

#### **Lavaggio:**

Sono necessari 20 mL di tampone di lavaggio diluito (1x) ogni 8 pozzetti oppure 200 mL ogni 96 pozzetti (ad es. 4 mL di concentrato e 196 mL di acqua distillata).

#### **Lavaggio automatizzato:**

Per la messa in funzione dello strumento e il volume morto sono da prevedersi quantità di tampone di lavaggio supplementari.

#### **Lavaggio manuale:**

Rimuovere accuratamente il liquido battendo la piastra su carta da filtro. Dispensare 300 µL di tampone di lavaggio diluito in ogni pozzetto e attendere 20 secondi. Ripetere l'operazione altre due volte.

#### **Micropiastra:**

Rimuovere i pozzetti non utilizzati e conservarli accuratamente chiusi nella busta richiudibile con bustina di agente essiccante (2-8 °C/35,6-46,4 °F).

## 7.2 Schema di dispensazione

Si consiglia di dispensare calibratori, controlli e campioni nel modo seguente:

| Per l'analisi QUANTITATIVA |       |       |     |      | Per l'analisi QUALITATIVA |    |     |   |      |
|----------------------------|-------|-------|-----|------|---------------------------|----|-----|---|------|
|                            | 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

CalD: calibrator D

PC: positive control

P1: patient 1

CalB: calibrator B

CalE: calibrator E

NC: negative control

P2: patient 2

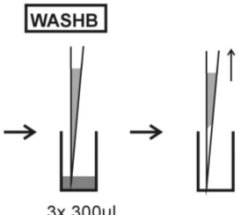
CalC: calibrator C

CalF: calibrator F

CC: cut-off calibrator

P3: patient 3

## 7.3 Fasi del test

| Pas.                        | Descrizione                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1.                          | Prima di dispensare controllare che le preparazioni del passaggio 7.1 siano state eseguite.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| 2.                          | Applicare i passaggi seguenti in base ai risultati desiderati per l'analisi quantitativa/qualitativa:                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>CONTROLLI E CAMPIONI</b> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| 3.                          |  <p>Seguendo le indicazioni del paragrafo 7.2 dispensare nei rispettivi pozzetti 100 µL di:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>a. Calibratori (da CAL.A a CAL.F) per analisi <b>QUANTITATIVA</b> o</li> <li>b. Calibratore cut-off (CC) per analisi <b>QUALITATIVA</b> e 100 µL di:             <ul style="list-style-type: none"> <li>• Controllo negativo (NC) e controllo positivo (PC) e</li> <li>• Siero diluito del paziente (P1, P2...)</li> </ul> </li> </ul> |
| 4.                          |  <p>Incubare per 30 minuti a temperatura 20-32 °C/68-89,6 °F.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 5.                          |  <p>Lavare 3 volte con 300 µL di tampone di lavaggio (diluito 1:50).</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |

### CONIUGATO

6.

**CONJ**



Dispensare 100 µL di coniugato in ciascun pozzetto.

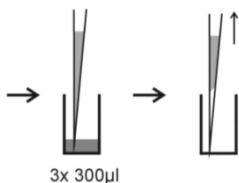
7.



Incubare per 30 minuti a temperatura 20-32 °C/68-89,6 °F.

8.

**WASHB**



Lavare 3 volte con 300 µL di tampone di lavaggio (diluito 1:50).

### SUBSTRATO

9.

**SUB**



Dispensare 100 µL di substrato TMB in ciascun pozzetto.

10.

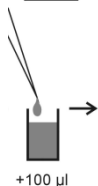


Incubare per 30 minuti a temperatura 20-32 °C/68-89,6 °F, proteggere da sorgenti luminose intense.

### STOP

11.

**STOP**



Dispensare 100 µL di soluzione stop in ciascun pozzetto, rispettando la successione in cui è stato aggiunto il substrato.

12.

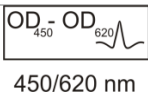


Incubare per almeno 5 minuti.

13.

Agitare delicatamente la piastra per 5 secondi.

14.



Misurare la densità ottica a 450 nm (raccomandati 450/620 nm) entro 30 minuti.

## 8 Analisi quantitativa e qualitativa

Per l'**analisi quantitativa** dei campioni riportare in ordinata (asse delle y) la media dei **valori delle OD degli standard e in assissa (asse delle x)** le rispettive concentrazioni in U/mL. Si consiglia di utilizzare l'elaborazione a 4 parametri in scala log/lin. Dalla OD (densità ottica) di ogni campione, leggere la corrispondente concentrazione anticorpale espressa in U/mL.

| Range normale | Intermedio   | Risultati positivi |
|---------------|--------------|--------------------|
| < 12 U/mL     | 12 - 18 U/mL | >18 U/mL           |

### Esempio di analisi

**NON utilizzare questo esempio per l'interpretazione dei risultati dei pazienti.**

| Calibratori IgG | OD 450/620 nm | CV % (Varianza) |
|-----------------|---------------|-----------------|
| 0 U/mL          | 0,073         | 3,1             |
| 3 U/mL          | 0,179         | 2,3             |
| 10 U/mL         | 0,342         | 1,2             |
| 30 U/mL         | 0,662         | 0,1             |
| 100 U/mL        | 1,310         | 0,9             |
| 300 U/mL        | 2,263         | 0,3             |

### Esempio di calcolo

| Paziente | Replicati (OD) | Media (OD) | Risultato (U/mL) |
|----------|----------------|------------|------------------|
| P 01     | 0,808/0,831    | 0,820      | 39,6             |
| P 02     | 1,081/1,071    | 1,076      | 66,1             |

I campioni con valori superiori al massimo range del calibratore devono essere annotati come >Max, diluiti adeguatamente e nuovamente testati. I campioni con valori inferiori al range del calibratore devono essere annotati come <Min.

Si prega di desumere i dati specifici dei lotti dal certificato di controllo allegato. I laboratori di analisi sono tenuti ad eseguire controlli di qualità interni con propri controlli e/o pool di sieri ai sensi della regolamentazione nazionali.

È consigliabile che ogni laboratorio stabilisca i propri range di riferimento normali sulla base di propri metodi, controlli, attrezzatura e popolazione di pazienti.

Se i valori dei controlli non rispondono ai criteri il test non è valido e deve essere ripetuto.

Verificare i seguenti problemi tecnici: date di scadenza dei reagenti (preparati), condizioni di conservazione, pipette, dispositivi, fotometri, condizioni di incubazione e metodi di lavaggio.

Se i campioni testati mostrano valori aberranti o deviazioni di qualsiasi tipo oppure si evidenzia che i criteri di convalida non vengono rispettati senza causa apparente contattare il produttore o il fornitore del kit.

Per l'**interpretazione qualitativa** leggere la densità ottica del calibratore cut off e dei sieri dei pazienti. Confrontare le OD. dei campioni con le OD. del calibratore cut off. Per l'interpretazione qualitativa si raccomanda di considerare come equivoci i sieri con un range intorno al 20% del valore di cut off. Tutti i campioni con OD. più alte sono considerati positivi, campioni con OD. più basse sono considerati negativi.

|                  |                  |   |                                |
|------------------|------------------|---|--------------------------------|
| <b>Negativo:</b> | OD paziente      | < | 0,8 x OD cut-off               |
| <b>Equivoco:</b> | 0,8 x OD cut-off | ≤ | OD paziente ≤ 1,2 x OD cut-off |
| <b>Positivo:</b> | OD paziente      | > | 1,2 x OD cut-off               |

## 9 Dati tecnici

|                              |                                                                                           |
|------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------|
| Materiale del campione:      | Siero                                                                                     |
| Volume del campione:         | 10 µL di siero per diluizione 1:101 con 1x tampone per la diluizione dei campioni diluito |
| Tempo totale di incubazione: | 90 minuti a temperatura ambiente 20-32 °C/68-89,6 °F                                      |
| Range di misura:             | 0-300 U/mL                                                                                |
| Sensibilità analitica:       | 1,0 U/mL                                                                                  |
| Conservazione:               | a 2-8 °C/35,6-46,4 °F nei flaconi originali                                               |
| Numero di determinazioni:    | 96 tests                                                                                  |

## 10 Dati del test/Caratteristiche del test

### 10.1 Sensibilità analitica

Testando i tamponi campione per 30 volte su **AESKULISA® tTg-G New Generation** si garantisce una sensibilità analitica di 1,0 U/mL.

### 10.2 Specificità e sensibilità

Le micropiastre sono rivestite di transglutaminasi ricombinante di tessuto umano e peptidi di gliadina specifici. Non si sono riscontrate reattività trasversali con altri autoantigeni. Al fine di verificare la reattività trasversale con la gliadina, sono stati testati 7 sieri positivi alla gliadina, che non hanno reagito con questo saggio, sebbene ciò potrebbe essere diverso per altri sieri positivi alla gliadina.

Ai fini della determinazione della sensibilità e della specificità, si è proceduto a testare il siero di 185 pazienti affetti da malattia celiaca (n=122) in Aeskulisa e mediante un dispositivo omologato. I risultati e le informazioni sulla malattia sono mostrati nelle tabelle sottostanti sotto forma di un raffronto con il dispositivo omologato.

|                            |        | diagnosi |     |        |
|----------------------------|--------|----------|-----|--------|
|                            |        | Pos      | Neg | Totale |
| <b>AESKULISA®</b><br>tTg-G | Pos    | 80       | 5   | 85     |
|                            | Neg    | 4        | 96  | 100    |
|                            | Totale | 84       | 101 | 185    |

|              |        |
|--------------|--------|
| Concordanza: | 95,1 % |
| Sensibilità: | 95,2 % |
| Specificità: | 95,1 % |

|                            |        | Dispositivo omologato |     |        |
|----------------------------|--------|-----------------------|-----|--------|
|                            |        | Pos                   | Neg | Totale |
| <b>AESKULISA®</b><br>tTg-G | Pos    | 18                    | 67  | 85     |
|                            | Neg    | 4                     | 96  | 100    |
|                            | Totale | 22                    | 163 | 185    |

|                   |        |
|-------------------|--------|
| concordanza rel.: | 61,6 % |
| sensibilità rel.: | 81,8 % |
| specificità rel.: | 58,9 % |

| Malattia                                  | # dei sieri testati | # AESKU positivi | # positivi dispos. omologato |
|-------------------------------------------|---------------------|------------------|------------------------------|
| Malattia celiaca                          | 64 / 64             | 59 (96.5)        | 9 (14.0)                     |
| Malattia celiaca (carenza di IgA)         | 20 / 20             | 18 (90.0)        | 9 (45.0)                     |
| Malattia celiaca (dieta priva di glutine) | 38 / 38             | 0 (0.0)          | 0 (0.0)                      |
|                                           |                     |                  |                              |
| Controllo malattia (totale)               | 70 / 217            | 11 (5.1)         | 4 (5.7)                      |
| Malattia di Crohn                         | 51 / 51             | 3 (5.9)          | 2 (3.9)                      |
| Malattia di Crohn                         | 0 / 58              | 0 (0.0)          | n / d                        |
| Colite ulcerosa                           | 4 / 4               | 1 (25.0)         | 1 (25.0)                     |
| Colite ulcerosa                           | 0 / 2               | 1 (50.0)         | n / d                        |
| Elimintiasi                               | 2 / 2               | 2 (100.0)        | 1 (50.0)                     |
| Intolleranza al lattosio                  | 2 / 2               | 2 (100.0)        | 0 (0.0)                      |
| Sieri positivi alla gliadina              | 0 / 7               | 0 (0.0)          | n / d                        |
| Donatori sani                             | 4 / 4               | 0 (0.0)          | 0 (0.0)                      |
| Donatori sani                             | 0 / 80              | 2 (2.5)          | n / d                        |

### 10.3 Linearità

Per sieri selezionati questo test ha permesso di stabilire una correlazione lineare fra la diluizione e la concentrazione di anticorpi. Tuttavia, data l'eterogeneità degli anticorpi umani non è da escludersi che alcuni sieri possano presentare un comportamento non lineare.

| Campioni n° | Diluizione | Concentrazione misurata (U/mL) | Concentrazione prevista (U/mL) | Recupero (%) |
|-------------|------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------|
| 1           | 1 / 100    | 41,3                           | 41,0                           | 100,8        |
|             | 1 / 200    | 22,2                           | 20,5                           | 108,3        |
|             | 1 / 400    | 11,2                           | 10,3                           | 109,3        |
|             | 1 / 800    | 5,5                            | 5,1                            | 107,1        |
| 2           | 1 / 100    | 86,6                           | 87,0                           | 99,5         |
|             | 1 / 200    | 42,9                           | 43,5                           | 98,5         |
|             | 1 / 400    | 23,9                           | 21,8                           | 109,7        |
|             | 1 / 800    | 11,9                           | 10,9                           | 109,4        |



## 10.4 Precisione

Per controllare la precisione di dosaggio è stata calcolata la varianza intra e inter-saggio con tre sieri in diversi settori della curva standard (n=18). Il range ammesso per CV è del 10%. (n=24 / 18)

| Varianza intra-dosaggio |              |        |
|-------------------------|--------------|--------|
| Campioni n°             | Media (U/mL) | CV (%) |
| 1                       | 19,2         | 3,1    |
| 2                       | 100,8        | 3,5    |
| 3                       | 152,8        | 4,6    |

| Varianza inter-dosaggio |              |        |
|-------------------------|--------------|--------|
| Campioni n°             | Media (U/mL) | CV (%) |
| 1                       | 16,7         | 4,3    |
| 2                       | 97,4         | 7,6    |
| 3                       | 194,4        | 9,1    |

## 10.5 Calibratura

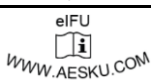
Mancando uno standard di riferimento internazionale, il sistema di misura quantitativo è calibrato in unità arbitrari. I risultati vengono espressi in U/mL.



## 11 Bibliografia

- 1. Dietrich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D (1997).**  
*Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease.*  
Nat Med 3: 797-801.
- 2. Dietrich W, Laag E, Schöpper H, Volta U, Ferguson A, Gillett H, Riecken EO, Schuppan D (1998).**  
*Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease.*  
Gastroenterology 115: 1317-1321.
- 3. Mäki M, Collin P (1997).**  
*Coeliac disease.*  
Lancet 349: 1755-1759.
- 4. Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C (2002).**  
*Structural basis for gluten intolerance in Celiac Sprue.*  
Science 297: 2275-2279.
- 5. Logan RFA. (1992)**  
*Problems and pitfalls in epidemiological studies of coeliac disease.*  
Dyn Nutr Res 2: 14-24.
- 6. Green PH, Jabri B. (2003)**  
*Coeliac disease.*  
Lancet 362: 383-391.
- 7. Not T, Horvath K, Hill ID, Partanen J, Hammed A, Magzzú G, Fasano (1998)**  
*Celiac disease in the USA: High prevalence of antiendomysium antibodies in healthy donors.*  
Scand J Gastroenterol. 33: 494-8.
- 8. Wong RC, Wilson RJ, Steele RH, Radford-Smith G, Adelstein S (2002)**  
*A comparison of 13 guinea pig and human anti-tissue transglutaminase antibody ELISA kits.*  
J Clin Pathol. 55: 488-94.
- 9. Schuppan (2000)**  
*Current concepts of celiac disease pathogenesis.*  
Gastroenterol. 119: 234-42.
- 10. Osman AA, Richter T, Stern M, Conrad K, Henker J, Brandsch C, Zimmer KP, Mothes T. (2002)**  
*Production of recombinant human tissue transglutaminase using baculovirus expression system and its application for serological diagnosis of celiac disease.*  
Eur J Gastroenterol Hepatol 14:1217-23.
- 11. Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Ara C, Biagi F, Perilli M, Amicosante G, Cifone MG (2003)**  
*Gliadin and tissue transglutaminase complexes in normal and coeliac duodenal mucosa.*  
Clin Exp Immunol. 134: 516-24.

## 12 Simboli normativi

|                                                                                     |                                                                                                                                                                                                             |                                                                                                                                        |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>IVD</b>                                                                          | - Diagnosi in vitro<br>- Pour diagnostic in vitro<br>- In Vitro Diagnostikum<br>- Para uso Diagnóstico in vitro                                                                                             | - For in vitro diagnostic use<br>- Para uso diagnóstico in vitro<br>- In Vitro Διαγνωστικό μέσο                                        |
| <b>REF</b>                                                                          | - Numero d'ordine<br>- Référence Catalogue<br>- Bestellnummer<br>- Número de catálogo                                                                                                                       | - Catalogue number<br>- Número de catálogo<br>- Αριθμός παραγγελίας                                                                    |
| <b>LOT</b>                                                                          | - Descrizione lotto<br>- Lot<br>- Chargen Bezeichnung<br>- Lote                                                                                                                                             | - Lot<br>- Lote<br>- Χαρακτηρισμός παρτίδας                                                                                            |
| <b>UDI</b>                                                                          | - Identificatore univoco del dispositivo<br>- Identifiant unique de l'appareil<br>- eindeutige Produktidentifizierung<br>- Identificador único do dispositivo                                               | - Unique Device Identifier<br>- Identificador único del dispositivo<br>- Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής                               |
| <b>CE</b>                                                                           | - Conformità europea<br>- Déclaration CE de Conformité<br>- Europäische Konformität<br>- Declaração CE de Conformidade                                                                                      | - EC Declaration of Conformity<br>- Declaración CE de Conformidad<br>- Ευρωπαϊκή συμφωνία                                              |
|    | - 96 determinazioni<br>- 96 tests<br>- 96 Bestimmungen<br>- 96 Testes                                                                                                                                       | - 96 tests<br>- 96 pruebas<br>- 96 προσδιορισμοί                                                                                       |
|    | - Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso<br>- Voir les instructions d'utilisation électronique<br>- Elektronische Gebrauchsanweisung beachten<br>- Seguir as instruções electrónicas de utilização | - See electronic instructions for use<br>- Siga las instrucciones electrónicas de uso<br>- Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης |
|    | - Da utilizzarsi entro<br>- Utilise avant le<br>- Verwendbar bis<br>- Utilizar antes de                                                                                                                     | - Use by<br>- Utilizar antes de<br>- Χρήση μέχρι                                                                                       |
|   | - Conservare a 2-8°C (35,6-46,4°F)<br>- Conserver à 2-8°C (35,6-46,4°F)<br>- Lagerung bei 2-8°C (35,6-46,4°F)<br>- Conservar entre 2-8°C (35,6-46,4°F)                                                      | - Store at 2-8°C (35,6-46,4°F)<br>- Conservar a 2-8°C (35,6-46,4°F)<br>- Φυλάσσεται στους 2-8°C (35,6-46,4°F)                          |
|  | - Prodotto da<br>- Fabriqué par<br>- Hergestellt von<br>- Fabricado por                                                                                                                                     | - Manufactured by<br>- Fabricado por<br>- Κατασκευάζεται από                                                                           |
| <b>CO-CAL</b>                                                                       | - Calibratore cut-off<br>- Etalon Seuil<br>- Grenzwert Kalibrator<br>- Calibrador de cut-off                                                                                                                | - Cut off Calibrator<br>- Calibrador de cut-off<br>- Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης                                           |
| <b>CON +</b>                                                                        | - Controllo positivo<br>- Contrôle Positif<br>- Positiv Kontrolle<br>- Controllo positivo                                                                                                                   | - Positive Control<br>- Control Positivo<br>- Θετικός ορός ελέγχου                                                                     |
| <b>CON -</b>                                                                        | - Controllo negativo<br>- Contrôle Négatif<br>- Negativ Kontrolle<br>- Controllo negativo                                                                                                                   | - Negative Control<br>- Control Negativo<br>- Αρνητικός ορός ελέγχου                                                                   |
| <b>CAL</b>                                                                          | - Calibratore<br>- Etalon<br>- Kalibrator<br>- Calibrador                                                                                                                                                   | - Calibrator<br>- Calibrador<br>- Αντιδραστήριο βαθμονόμησης                                                                           |
| <b>CONJ</b>                                                                         | - Coniugato<br>- Conjugué<br>- Konjugat<br>- Conjugado                                                                                                                                                      | - Conjugate<br>- Conjugado<br>- Σύζευγμα                                                                                               |
| <b>MP</b>                                                                           | - Micropiastra rivestita<br>- Microplaque sensibilisée<br>- Beschichtete Mikrotiterplatte<br>- Microplaca revestida                                                                                         | - Coated microtiter plate<br>- Microplaca sensibilizada<br>- Επικαλυμμένη μικροπλάκα                                                   |
| <b>WASHB 50x</b>                                                                    | - Tampone di lavaggio<br>- Tampon de Lavage<br>- Waschpuffer<br>- Solução de lavagem                                                                                                                        | - Wash buffer<br>- Solución de lavado<br>- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης                                                                   |
| <b>SUB</b>                                                                          | - Tampone substrato<br>- Substrat<br>- Substratpuffer<br>- Substrato                                                                                                                                        | - Substrate buffer<br>- Tampón sustrato<br>- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος                                                           |
| <b>STOP</b>                                                                         | - Reagente bloccante<br>- Solution d'Arrêt<br>- Stopreagenz<br>- Solução de paragem                                                                                                                         | - Stop solution<br>- Solución de parada<br>- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης                                                         |
| <b>SB 5x</b>                                                                        | - Tampone campione<br>- Tampon Echantillons<br>- Probenpuffer<br>- Diluente de amostra                                                                                                                      | - Sample buffer<br>- Tampón Muestras<br>- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων                                                                 |