AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA® DGP-A

Ref 3513

CE | Σ 96 | 2°C – 8°C | IVD | eIFU WWW.AESKU.COM

Manual de Instruções

Conteúdo

1 Utilização 1
2 Aplicações clínicas e princípio do ensaio 1
3 Componentes do Kit 2
4 Armazenamento e validade 2
5 Avisos e medidas de precaução 3
6 Recolha da amostra, manipulação e armazenamento 4
7 Procedimento do teste 4
8 Interpretação quantitativa e qualitativa 7
9 Dados Técnicos 8
10 Dados do teste / Características do teste 8
11 Bibliografia 11
12 Símbolos regulamentares 12

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

1 Utilização

***AESKULISA*® DGP-A** é um teste imunoenzimático em fase sólida com péptideos específicos de gliadina sintéticos deamidadas para a determinação quantitativa e qualitativa completa de anticorpos IgA contra péptidos específicos de gliadina deamidada no soro humano.
O teste serve para o diagnóstico da doença celíaca (enteropatia por sensibilidade ao glúten).

2 Aplicações clínicas e princípio do ensaio

A enteropatia por sensibilidade ao glúten (ESG) ou doença celíaca caracteriza-se por uma atrofia das vilosidades do intestino delgado, provocando um achatamento da mucosa. Causa desta doença é uma intolerância patológica contra à gliadina, que é a fracção solúvel em álcool do glúten, um componente do trigo, do centeio e da cevada.
A doença é induzida pela ingestão de glúten. Como terapia tem de ser cumprida uma dieta livre em glúten durante toda a vida, porque os sintomas voltam a aparecer se for novamente ingerido glúten. A doença está associada à HLA, >95% dos doentes têm DQ2 codificado pelo DQA1*0501 e DQB1*0201. A manifestação da doença ocorre em todas as faixas etárias, contudo com maior frequência durante os primeiros anos da infância, parcialmente já em neonatos. A incidência situa-se entre 1/4000 até 1/300 na Europa.
O diagnóstico realiza-se por fim pela prova da mucosa lisa típica mediante biopsia do intestino delgado, acompanhado por marcadores serológicos. Anticorpos contra gliadina e transglutaminase tecidual (tTG) são de grande importância neste âmbito. A tTG foi identificada como sendo o antígeno alvo dos EMA. EMA são os anticorpos que se ligam ao endomísio, um componente extracelular dos músculos lisos, e a sua prova no teste de imunofluorescência indirecta (IFT) era até agora uma ferramenta importante para o diagnóstico da doença celíaca.
Os anticorpos anti-gliadina da subclasse IgG e IgA encontram-se com elevada frequência em soros de doentes com doença celíaca, contudo são menos específicos que os auto-anticorpos contra tTG e EMA.
Os exames recentes revelaram, que anticorpos dos pacientes da doença celíaca dirigidos contra gliadina ligam um número muito limitado de epítopes específicos nas moléculas de gliadina. Além disso é a ligação dos anticorpos anti-gliadina intensificada com a deaminação selectiva de gliadina pela transglutaminase tecidual (tTG). Por isso os sistemas de testes, que utilizam péptideos deaminados e definidos, revelam uma exactidão diagnóstica maior, que os testes anti-gliadina habituais.
A determinação de anticorpos IgG contra PGD (e/ou tTG) é especialmente importante para aqueles 2 a 5% de doentes com deficiência de IgA, por estes não serem detectados na determinação com testes de anticorpos da subclasse IgA.
Em neonatos, a determinação de anticorpos contra gliadina como parâmetro serológico reveste-se de uma importância especial, já que os auto-anticorpos contra tTG e EMA não estão presentes nessa idade.

Princípio do teste
As provas de soro, diluídas a 1:101, são incubadas nos poços que estão revestidas com o antígeno específico. Neste passo os anticorpos específicos do soro do doente, se presentes, unem-se ao antígeno na placa; partes de soro não ligadas são eliminadas na etapa de lavagem seguinte. Depois são adicionadas imunoglobulinas anti-humanas, que se encontram marcadas com peroxidase de rábano (conjugado). Durante uma incubação elas unem-se ao complexo antígeno-anticorpo previamente formado, eas imunoglobulinas não ligadas são eliminadas na etapa de lavagem seguinte. A prova de anticorpos ligados efectua-se através de uma reacção colorimétrica (azul) enzimática do substrato, que é parada com ácido diluído (mudança da cor para amarelo). A intensidade de cor do cromogénio depende da quantidade de conjugado ligado ao complexo antígeno-anticorpo, sendo dessa forma directamente proporcional à concentração inicial dos respectivos anticorpos na amostra do paciente.

3 Componentes do Kit

DILUIR ANTES DE USAR				
Item	Quantidade	Cor da tampa	Cor da solução	Descrição/Conteúdo
Tampão de amostra (5x)	1 x 20ml	Branco	Amarelo	concentrado 5x Tris, cloreto de sódio (NaCl), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Tampão de lavagem (50x)	1 X 20ml	Branco	Verde	concentrado 50x Tris, NaCl, Tween 20, azido de sódio < 0.1% (conservante)
PRONTO A USAR				
Item	Quantidade	Cor da tampa	Cor da solução	Descrição/Conteúdo
Controlo negativo	1 x 1,5ml	Verde	Incolor	Soro humano (diluído), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Controlo positivo	1 x 1,5ml	Vermelho	Amarelo	Soro humano (diluído), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Calibrador Cut-off	1 x 1,5ml	Azul	Amarelo	Soro humano (diluído), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Calibradores	6 x 1,5ml	Branco	Amarelo *	Concentração de cada calibrador: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. Soro humano (diluído), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Conjugado, IgA	1 x 15ml	Vermelho	Vermelho	Contém: Imunoglobulinas anti-humanas marcadas com peroxidase de rábano, albumina de soro bovino (BSA)
Substrato TMB	1 x 15ml	Preto	Incolor	Tetrametilbenzidina estabilizada e peróxido de hidrogénio (TMB/H_2O_2)
Solução de paragem	1 x 15ml	Branco	Incolor	Ácido clorídrico 1M
Microplaca	12x8 poços	N/A	N/A	Fraccionáveis. Revestimento ver ponto 1.

* Intensidade da cor aumenta com a concentração

MATERIAIS NECESSÁRIOS

Fotómetro para microplacas com filtro óptico para 450 nm, opcionalmente com filtro de referência opcional de 620 nm (600-690 nm). Material de vidro (cilindro 100-1000 ml), tubos de ensaio para as diluições. Agitador de tubos tipo Vortex, micropipetas (10,100, 200, 500, 1000 µl) ou multipipeta ajustável (100-1000µl). Aparelho de lavagem para microplacas (repetição 300 µl, pipeta multicanal ou sistema automatizado), papel de filtro. Os nossos testes foram concebidos para serem utilizados com água purificada segundo a definição da Farmacopeia dos Estados Unidos (USP 26 – NF 21) e da Farmacopeia Europeia (Eur.Ph. 4.ª ed.).

4 Armazenamento e validade

Todos os reagentes e a microplaca devem ser guardados nas suas embalagens originais a 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F. Soluções diluídas são estáveis durante 1 mês a 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F. Devem ser cumpridas as datas de validade indicadas na embalagem e nos rótulos dos diferentes componentes.

Não usar components do kit que estejam fora do prazo de validade Evite a exposição da solução de substrato TMB a luz intensa. Guarde as microplacas sempre fechadas dentro da sua película de embalagem, junto com o dessecante.

5 Avisos e medidas de precaução

5.1 Risco para a saúde

ESTE PRODUTO DEVE SER USADO EXCLUSIVAMENTE PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO. A aplicação tem de ser realizada por pessoal que tenha sido especialmente instruído e formado no uso de métodos de diagnóstico in vitro. Apesar de este produto não ser considerado como particularmente tóxico ou perigoso em condições de utilização, ver o que se segue para máxima segurança:

Recomendações e medidas de precaução

Dado que alguns componentes do kit contêm reagentes potencialmente perigosos, estes podem causar uma irritação dos olhos e da pele.

ATENÇÃO: Calibradores, controlos e tampões contêm azida de sódio (NaN_3) como conservante. NaN_3 pode ter efeito tóxico, se for ingerido ou absorvido através da pele ou dos olhos. NaN_3 pode formar azidas metálicas altamente explosivas em contacto com canos de chumbo ou cobre. Para evitar concentrações de azida ao remover estas soluções deve-se passar com água em grande quantidade. É favor observar as prescrições locais/nacionais para descontaminação.

Ao trabalhar com o kit não comer, beber ou fumar.Não pipetar com a boca. Usar luvas descartáveis.

Os reagentes contidos neste produto, de origem humana (controlos e calibradores), demonstraram ser negativos após análise de antígeno de superfície da hepatite B (HbsAg), hepatite C e HIV 1 e 2. Contudo, em produtos de origem humana nunca se pode excluir com certeza definitiva a existência dos agentes patogénicos mencionados, outros ou de agentes eventualmente desconhecidos ou ainda não diagnosticados. Por isso os controlos, calibradores e soros dos doentes devem ser considerados tranDGP IgAissores potenciais de infecções e manuseados segundo as prescrições legais vigentes no seu país.

O kit contém material de origem animal conforme indicado no índice, manuseie segundo as prescrições legais vigentes no seu país.

5.2 Avisos gerais

Caso as informações sobre o produto, incluindo a rotulagem, tiverem erros ou estiverem incorrectas, contactar o fabricante ou o fornecedor do kit de teste.

Componentes de diferentes lotes e apetrechos de teste não devem ser trocados, porque isso poderá levar a uma adulteração dos resultados.

Todos os componentes do kit devem atingir a temperatura ambiente (20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F) e ser bem agitados antes do teste.

É impreterível seguir o protocolo prescrito para a realização do teste.

Incubação: Para a realização automática de testes recomendamos uma temperatura de 30 °C / 86 °F.

Nunca exponha os componentes do kit a temperaturas superiores a 37 °C / 98,6 °F.

Pipete a solução de substrato sempre com pontas de pipeta novas para evitar contaminações. Proteja a solução de substrato de luz intensa. Nunca pipete o a solução do conjugado com pontas de pipeta que estejam contaminadas com outros reagentes.

Um diagnóstico clínico definitivo não se deve basear somente nos resultados do teste realizado, mas deve ser elaborado pelo médico, tendo em conta todos os resultados clínicos e de laboratório. O diagnóstico deve ser impreterivelmente confirmado com diferentes métodos diagnósticos.

6 Recolha da amostra, manipulação e armazenamento

Recomenda-se a utilização de amostras de soro colhidas na altura. A extracção de sangue deve seguir os requerimentos de protocolo do seu país. Não utilize amostras de soro ictéricas, lipémicas, hemolizadas ou contaminadas por bactérias.

Em caso de amostras turvas, as partículas devem ser centrifugadas a baixa velocidade (<1000 x g).As amostras de sangue devem ser tomadas em tubos limpos, secos e vazios. Após a separação, as amostras de soro devem ser utilizadas nas primeiras 8 horas, guardadas num local bem fechado até 48 horas a 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F, se for necessário um armazenamento mais prolongado, devem ser congeladas a - 20 °C / - 4 °F.

7 Procedimento do teste

7.1 Preparação

Diluição de reagentes concentrados:

Dilua o tampão de amostra concentrado 1:5 com água destilada (p.ex. 20 ml mais 80 ml)

Dilua o tampão de lavagem concentrado 1:50 com água destilada (p.ex. 20 ml mais 980 ml).

Para evitar erros, sugerimos a marcação das tampas dos vários calibradores.

Diluição das amostras dos doentes:

Dilua e misture as amostras de soro 1:101 com tampão de amostra (1x),

p.ex. 1000 µl tampão de amostra + 10 µl de soro.

Lavagem:

São necessários 20 ml de tampão de lavagem diluído (1x) para 8 poços ou 200 ml para 96 poços p.ex. 4 ml de concentrado mais 196 ml de água destilada.

Lavagem automatizada:

Para a colocação em serviço do instrumento e o volume morto deve, ser consideradas quantidades adicionais de tampão de lavagem.

Lavagem manual:

Remova cuidadosamente o líquido ao bater a placa sobre papel filtrante. Pipete 300 µl de tampão de lavagem diluído em cada poço, espere 20 segundos. Repita o procedimento mais duas vezes.

Microplacas:

Retire os poços não usados, armazenando-os a 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F de forma bem fechada dentro da película da embalagem, junto com o dessecante.

7.2 Schéma de pipetage

Sugerimos a pipetagem de calibradores, controlos e amostras da seguinte forma:

Pour une interprétation quantitative

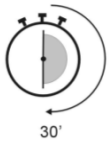
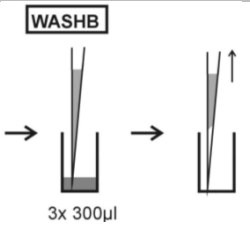
	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1	
B	Cal A	Cal E	P1	
C	Cal B	Cal F	P2	
D	Cal B	Cal F	P2	
E	Cal C	PC	P3	
F	Cal C	PC	P3	
G	Cal D	NC	…	
H	Cal D	NC	…	

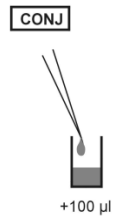
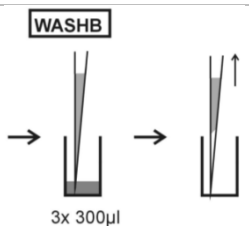
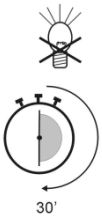
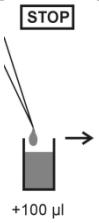
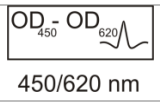
Pour une interprétation qualitative

	1	2	3	4...
A	NC	P2		
B	NC	P2		
C	CC	P3		
D	CC	P3		
E	PC	…		
F	PC	…		
G	P1	…		
H	P1	…		

CalA: calibrator A
CalB: calibrator B
CalC: calibrator C
CalD: calibrator D
CalE: calibrator E
CalF: calibrator F
PC: positive control
NC: negative control
CC: cut-off calibrator
P1: patient 1
P2: patient 2
P3: patient 3

7.3 Passos de teste

Passo	*Descrição*
1.	Verifique se as preparações do passo 7.1 acima foram realizadas antes da pipetagem.
2.	Utilize os passos que se seguem de acordo com os resultados de interpretação quantitativa/qualitativa pretendidos:
	CONTROLOS E AMOSTRAS
3.	 Pipete para os poços conforme descrito no ponto 7.2 acima, 100 µl de um dos seguintes: a. Calibradores (CAL.A a CAL.F) para interpretação *QUANTITATIVA* ou b. Calibrado Cut-off (CC) para interpretação *QUALITATIVA* e 100 µl de cada um dos seguintes: • Controlo negativo (NC) e Controlo positivo (PC) e • Soro diluído dos pacientes (P1, P2...)
4.	 Incube durante 30 minutos a 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F.
5.	 Lave 3 vezes com 300 µl de tampão de lavagem 1:50 diluído.

	CONJUGAR	
6.		Pipete 100 µl de conjugado em cada poço.
7.		Incube durante 30 minutos a 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F.
8.		Lave 3 vezes com 300 µl de tampão de lavagem 1:50 diluído.
	SUBSTRATO	
9.		Pipete 100 µl de substrato TMB em cada poço.
10.		Incube durante 30 minutos a 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F, protegida de luz intensa.
	PARAGEM	
11.		Pipete 100 µl da solução de paragem dentro de cada poço, na meDGP IgAa sequência da pipetagem do substrato.
12.		Incube durante 5 minutos, no mínimo.
13.		Agite cuidadosamente a placa durante 5 segundos.
14.		Leia a densidade óptica a 450 nm dentro de 30 minutos (recomendável a 450/620 nm).

8 Interpretação quantitativa e qualitativa

A **interpretação quantitativa** realiza-se com base numa curva padrão, em que a densidade óptica dos calibradores (eixo y) é traçada contra a concentração em U/ml (eixo x). É recomendada uma escala log/lin e um ajuste de 4 parâmetros para a interpretação. Com base na curva é determinada a concentração de anticorpos em U/ml a partir da densidade óptica da amostra.

Gama Normal	Duvidosos	Resultados positivos
< 12 U/ml	12 - 18 U/ml	>18 U/ml

Exemplo de interpretação

Este exemplo NÃO pode ser usado para interpretar os resultados dos pacientes

Calibradores IgA	*DO 450/620 nm*	*CV % (Variância)*
0 U/ml	0,040	0,0
3 U/ml	0,126	1,5
10 U/ml	0,287	2,7
30 U/ml	0,513	4,0
100 U/ml	1,086	4,5
300 U/ml	1,974	5,6

Exemplo de cálculo

Paciente	Replicado (OD)	Valor médio (OD)	Resultado (U/ml)
P 01	1,007/1,011	1,009	98,4
P 02	0,533/0,523	0,528	38,2

As amostras acima da gama do calibrador mais elevado devem ser referidas como >Max. Devem ser diluídas conforme necessário voltar a realizar o ensaio. As amostras abaixo da gama do calibrador devem ser referidas como < Min.

Consulte o certificado de controlo junto para dados específicos do lote. Laboratórios médicos devem realizar um controlo de qualidade interno, utilizando controlos próprios e/ou um „pool“ de soros interno segundo os regulamentos da UE.

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores normais, com base nas suas próprias técnicas, controlos, equipamento e população de doentes.

No caso dos valores dos controlos não cumprirem os critérios, o teste é inválido e deverá ser repetido.

Devem verificar-se as seguintes questões técnicas: Prazo de validade dos reagentes (preparados), condições de armazenamento, pipetas, aparelhos, fotómetro, condições de incubação e métodos de lavagem.

Se os itens testados mostrarem valores aberrantes ou qualquer tipo de desvio ou se os critérios de avaliação não forem cumpridos sem causa plausível, contactar o fabricante ou o fornecedor do kit de teste.

Na **interpretação qualitativa** efectua-se a comparação da densidade óptica (DO) da amostra dos doentes com a densidade óptica do calibrador cut-off. Se a densidade óptica da amostra do doente se situar na gama de +/-20% do calibrador cut-off, então deve ser considerada como valor limite. Em caso de uma DO mais elevada, a amostra do doente é considerada positiva, amostras com DOs mais baixas são consideradas negativas.

Negativo:		**DO doente**	**<**	**0,8 x DO cut-off**		
Dudosos:	**0,8 x**	**DO cut-off**	**≤**	**DO doente**	**≤**	**1,2 x DO cut-off**
Positivo:		**DO doente**	**>**	**1,2 x DO cut-off**		

9 Dados Técnicos

Amostra:	soro
Volume de amostra:	10 µl de amostra diluída a 1:101 com tampão de amostra 1x
Tempo total de incubação:	90 minutos à temperatura 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F
Intervaloo de calibração:	0-300 U/ml
Sensibilidade analítica:	1,69 U/ml
Intervalo que pode ser reportado:	**1,74 – 300 U/ml**
Armazenamento:	a 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F utilize apenas os frascos originais
Número de determinações:	96 tests

10 Dados do teste / Características do teste

10.1 Sensibilidade analítica

Testar o buffer de amostra 65 vezes no ***AESKULISA***® **DGP-A** dá um limite de vazio de 0,53 U/ml e 10 amostras negativas baixas para 8 vezes dão um limite de detecção de 1,69 U/ml.

10.2 Método de comparação

As microplacas estão revestidas com peptídeos sintéticos, desamidados, derivados de gliadina. Não foi verificada qualquer reactividade cruzada com outros anticorpos.

Foram testados um total de 208 amostras de adultos e pediátricas (para composição, ver a tabela) no ***AESKULISA***® **DGP-A** e um dispositivo predicado que reage no intervalo que pode ser reportado. Os resultados estão resumidos na tabela seguinte (foram excluídas amostras do intervalo que pode ser reportado da comparação, mas foram incluídas na validação clínica abaixo):

DGP-A	***AESKULISA***®	**Predicado**	
Diagnóstico	**POS (>18)**	**POS**	**Total**
CD	45 (61,6%)	51 (69,9%)	73
Def. CD IgA	0 (0%)	0 (0%)	2
CD suspeito	23 (63,9%)	21 (58,3%)	36
Def. CD suspeito IgA	0 (0%)	0 (0%)	1
DH	35 (85,4%)	35 (85,4%)	41
Controlos (não DH/CD)	1 (1,8%)	1 (1,8%)	55
Total	**104 (50%)**	**108 (51,9%)**	**208**

DGP-A		**predicado**		
		POS (>20)	**NEG (≤20)**	**Total**
AESKU	**Pos (>18)**	88	16	104
	Neg (≤18)	20	84	104
	Total	108	100	208

Acordo positivo	95% C.I.	
81,48% (88/108)	73,12%	87,68%
Acordo negativo		
84% (84/100)	75,58%	89,91%
Acordo geral		
82,69% ((88+84)/208)	76,97%	87,23%

(*) Os acordos foram calculados em relação a resultados equívocos como resultados negativos e positivos baixos, assim como positivos.

Das 36 amostras com resultados discrepantes, o ***AESKULISA***® superou o dispositivo predicado em 16 casos, com base em informação adicional, como biopsia EMA e resultados de ensaios DGP de outras classes de immunoglobulina.

10.3 Avaliação clínica

A sensibilidade diagnóstica de 76,4% e a especificidade de diagnóstico de 99,1% foram calculadas através da utilização de 254 amostras: O CD e DH acima e não DH/CD e auto-imune, controlam amostras que ignoram os resultados para as amostras suspeitas e amostras com deficiência de IgA (para composição, ver tabela abaixo).

DGP-A	**AESKU**	
Grupo de doença	**POS (>18)**	**Total**
Controlos auto-imunes*	0(0%)	54
CD	51(64,6%)	79
DH	59(90,8%)	65
Controlos (não DH/CD)	1(1,8%)	56
Total		**254**

(*) contém amostras adicionais apenas determinadas no AESKULISA e não determinadas no dispositivo predicado e amostra que exibiam uma elevada positividade do intervalo mensurável.

DGP-A	Diagnóstico		
Teste	**POS**	**NEG**	**Total**
POS>18	110	1	111
NEG ≤18	34	109	143
Total	144	110	254

Sensibilidade de diagnóstico*	**95% C.I.**	
76,39% (110/144)	68,82%	82,58%
Especificidade de diagnóstico*		
99,09% (109/110)	95,03%	99,84%

*os resultados equívocos foram considerados negativos

10.4 Linearidade

Os soros escolhidos foram testados com este kit e concluiu-se que se diluem de forma linear com um soro negativo de acordo com CLSI EP06-A. Porém, devido à natureza heterogénea dos anticorpos humanos, pode haver amostras que não seguem esta regra.

Composição		Alto			Médio			Baixo		
Amostra pos.	Amostra neg.	Valor médio [U/ml]	Previsto [U/ml]	Recuperação [%]	Valor médio [U/ml]	Previsto [U/ml]	Recuperação [%]	Valor médio [U/ml]	Previsto [U/ml]	Recuperação [%]
100,0%	0,0%	331,9	331,9	100,0%	89,6	89,6	100,0%	13,9	13,9	100,0%
87,5%	12,5%	297,8	290,4	102,5%	74,2	78,4	94,7%	10,9	12,2	89,5%
75,0%	25,0%	247,9	248,9	99,6%	68,0	67,2	101,2%	10,3	10,4	98,4%
67,5%	32,5%	203,5	224,0	90,8%	55,2	60,4	91,2%	9,2	9,4	98,0%
50,0%	50,0%	168,0	165,9	101,3%	39,4	44,8	88,0%	6,1	7,0	87,1%
37,5%	62,5%	141,5	124,4	113,7%	32,9	33,6	98,0%	4,8	5,2	92,1%
25,0%	75,0%	88,6	83,0	106,7%	18,7	22,4	83,5%	3,1	3,5	90,2%
12,5%	87,5%	35,6	41,5	85,7%	5,3	11,2	46,9%	1,3	1,7	73,4%

Tendo estes dados em conta, o intervalo linear para o ***AESKULISA*® DGP-A** é desde 1,74 U/ml a 300 U/ml.

10.5 Precisão

Para determinar a precisão do ensaio, a variabilidade (intra, inter-ensaio e lote-para-lote) foi avaliada ao examinar a sua capacidade de reprodução em cinco amostras de soro, seleccionadas para representarem um intervalo sobre a curva padrão, em 8 repetições em 5 operações. A variabilidade lote-para-lote foi avaliada ao medir cinco amostras de soro em 8 repetições em 3 lotes diferentes.

Variabilidade inter-ensaio			Variabilidade intra-ensaio			Variabilidade lote-para-lote		
N.º de amostra	Valor médio (U/ml)	CV (%)	N.º de amostra	Valor médio (U/ml)	CV (%)	N.º de amostra	Valor médio (U/ml)	CV (%)
1	2,5	20,9	1	2,5	11,2	1	2,6	17,6
2	12,9	10,5	2	12,9	6,9	2	13,0	9,1
2b	16,7	10,7	2b	16,7	9,6	-	-	-
3	49,9	10,6	3	49,9	4,7	3	52,3	8,2
4	97,2	10,2	4	97,2	5,4	4	98,5	9,0
5	209,3	14,2	5	209,3	5,7	5	225,6	10,8

Os critérios de aceitação são ≤15% para amostras positivas, ≤15% para amostras equívocas e ≤25% para amostras negativas.

10.6 Calibração

Devido à não existência de uma calibração de referência internacional, este ensaio está calibrado em unidades arbitrárias (U/ml).

10.7 Intervalo normal

Os anticorpos DGP_A estão reportados em até 10% da população normal.

Foram testados 133 amostras de sangue aleatórias para verificar os anticorpos DGP-A. Dessas; 116 estavam entre a faixa etária de 16-45 anos e 17 tinham mais de 46 anos; incluíam um número semelhante de homens e mulheres. Uma amostra (0,8%) foi equívoca, as outras foram negativas. O valor médio das amostras foi de 3,1 unidades, com um desvio padrão de 1,8 unidades. O valor médio é 8,5 desvios padrão abaixo do limite de positividade de 18 unidades.

11 Bibliografia

Schwertz E, et al.: Serologic assay based on gliadin-related nonapeptides as a highly sensitive and specific diagnostic aid in celiac disease. Clinical Chemistry 50: 2370-5, 2004.
Osman AA, et al.: B-Cell epitopes of gliadin. Clin Exp Immunol 121: 248-254, 2000.
Mothes T.: Deamidated gliadin peptides as targets for celiac disease-specific antibodies. Adv Clin Chem. 44: 35-63, 2007
Aleanzi M, et al.: Celiac disease: Antibody recognition against native and selectively deamidaion gliadin peptides. Clinical Chemistry 47: 2023-8, 2001.
Richter T, et al.; Determination of IgG and IgA antibodies against native gliadin is not helpful for the diagnosis of coeliac disease in children up to 2 years old. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 55: 21-5, 2012
Leffler DA, Schuppan D.: Update on serologic testing in celiac disease. Am J Gastroenterol. 105: 2520-4, 2010.
Kurppa K, et al.: Antibodies against deamidated gliadin peptides in early-stage celiac disease. J Clin Gastroenterol. 45: 673-8, 2011.
Vermeersch P, et al.: Diagnostic performance of IgG anti-deamidated gliadin peptide antibody assays is comparable to IgA anti-tTG in celiac disease. Clin Chim Acta. 411: 931-5, 2010
Prause C, et al.: Antibodies against deamidated gliadin as new and accurate biomarkers of childhood coeliac disease. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 49: 52-8, 2009
Naiyer AJ, et al.: Comparison of commercially available serologic kits for the detection of celiac disease. J Clin Gastroenterol. 43: 225-32, 2009
Fasano, A. Surprises from Celiac Disease. Scientific American. 2009
Ivarsson, A., et al.: Breast-feeding protects against celiac disease. Am.J.Clin.Nutr. 75, 914–921, 2002
Lagerqvist, C., et al.: Antigliadin immunoglobulin A best in finding celiac disease in children younger than 18 months of age. J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr. 47, 428–435. 2008
Liu, E. et al.: Natural history of antibodies to deamidated gliadin peptides and transglutaminase in early childhood celiac disease. J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr. 45, 293–300. 2007
Losowsky, M.S. A history of coeliac disease. Dig.Dis. 26, 112–120. 2008
Maglio, M. et al.: . Serum and intestinal celiac disease-associated antibodies in children with celiac disease younger than 2 years of age. J.Pediatr.Gastroenterol.Nutr. 50, 43–48. 2010
Not, T. et al.: Celiac disease risk in the USA: high prevalence of antiendomysium antibodies in healthy blood donors. ScandJ Gastroenterol 33, 494–498. 1998
Salmi, T.T., et al.: Endomysial antibody-negative coeliac disease: clinical characteristics and intestinal autoantibody deposits. Gut 55, 1746–1753. 2006
Schuppan, D., et al.:. Celiac disease: from pathogenesis to novel therapies. Gastroenterology. 137, 1912–1933. 2009
Vermeersch, P. et al. Diagnostic performance of IgG anti-deamidated gliadin peptide antibody assays is comparable to IgA anti-tTG in celiac disease. Clin.Chim.Acta 411, 931–935. 2010

12 Símbolos regulamentares

IVD	- Diagnosi in vitro	- For in vitro diagnostic use
	- Pour diagnostic in vitro	- Para uso diagnóstico in vitro
	- In Vitro Diagnostikum	- In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	- Para uso Diagnóstico in vitro	
REF	- Numero d'ordine	- Cataloge number
	- Référence Catalogue	- Numéro de catálogo
	- Bestellnummer	- Αριθμός παραγγελίας
	- Número de catálogo	
LOT	- Descrizione lotto	- Lot
	- Lot	- Lote
	- Chargen Bezeichnung	- Χαρακτηρισμός παρτίδας
	- Lote	
UDI	- Identificatore univoco del dispositivo	- Unique Device Identifier
	- Identifiant unique de l'appareil	- Identificador único del dispositivo
	- eindeutige Produktidentifizierung	- Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
	- Identificador único do dispositivo	
CE	- Conformità europea	- EC Declaration of Conformity
	- Déclaration CE de Conformité	- Declaración CE de Conformidad
	- Europäische Konformität	- Ευρωπαϊκή συμφωνία
	- Déclaracão CE de Conformidade	
Σ 96	- 96 determinazioni	- 96 tests
	- 96 tests	- 96 pruebas
	- 96 Bestimmungen	- 96 προσδιορισμοί
	- 96 Testes	
eIFU WWW.AESKU.COM	- Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso	- See electronical instructions for use
	- Voir les instructions d'utilisation électronique	- Siga las instrucciones electrónicas de uso
	- Elektronische Gebrauchsanweisung beachten	- Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης
	- Seguir as instruções electrónicas de utilização	
	- Da utilizzarsi entro	- Use by
	- Utilise avant le	- Utilizar antes de
	- Verwendbar bis	- Χρήση μέχρι
	- Utilizar antes de	
+2°C +8°C	- Conservare a 2-8°C (35,6-46,4°F)	- Store at 2-8°C (35.6-46.4°F)
	- Conserver à 2-8°C (35,6-46,4°F)	- Conservar a 2-8°C (35,6-46,4°F)
	- Lagerung bei 2-8°C (35,6-46,4°F)	- Φυλάσσεται στους 2-8°C (35,6-46,4°F)
	- Conservar entre 2-8°C (35,6-46,4°F)	
	- Prodotto da	- Manufactured by
	- Fabriqué par	- Fabricado por
	- Hergestellt von	- Κατασκευάζεται από
	- Fabricado por	
CO-CAL	- Calibratore cut-off	- Cut off Calibrator
	- Etalon Seuil	- Calibrador de cut-off
	- Grenzwert Kalibrator	- Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador de cut-off	
CON +	- Controllo positivo	- Positive Control
	- Contrôle Positif	- Control Positivo
	- Positiv Kontrolle	- Θετικός ορός ελέγχου
	- Controlo positivo	
CON −	- Controllo negativo	- Negative Control
	- Contrôle Négatif	- Control Negativo
	- Negativ Kontrolle	- Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Controlo negativo	
CAL	- Calibratore	- Calibrator
	- Etalon	- Calibrador
	- Kalibrator	- Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador	
CONJ	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	
MP	- Micropiastra rivestita	- Coated microtiter plate
	- Microplaque sensibilisée	- Microplaca sensibilizada
	- Beschichtete Mikrotiterplatte	- Επικαλυμμένη μικροπλάκα
	- Microplaca revestida	
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio	- Wash buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solucão de lavagem	
SUB	- Tampone substrato	- Substrate buffer
	- Substrat	- Tampón sustrato
	- Substratpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	- Substrato	
STOP	- Reagente bloccante	- Stop solution
	- Solution d'Arrêt	- Solución de parada
	- Stopreagenz	- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
	- Solucão de paragem	
SB 5x	- Tampone campione	- Sample buffer
	- Tampon Echantillons	- Tampón Muestras
	- Probenpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Diluente de amostra	