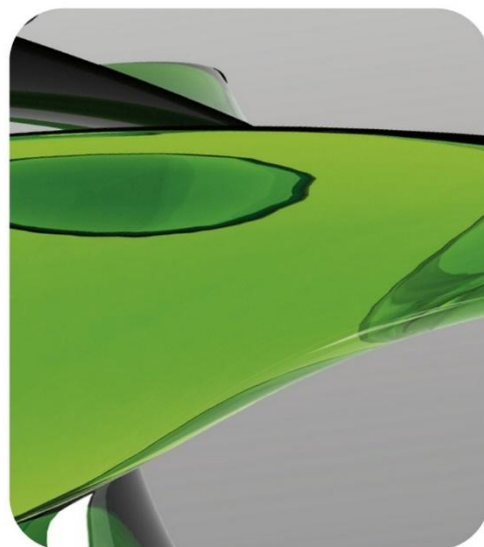




AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA® DGP-G

Ref 3514



 AESKU.DIAGNOSTICS THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS	Product Ref.	3514
	Product Desc.	DGP-G
	Manual Rev. No.	004 : 2025-02-28

Manuel d'instructions

Contenu

1	Usage prévu	1
2	Application Clinique et Principe du Test.....	1
3	Contenu du kit.....	2
4	Stockage et durée de conservation.....	2
5	Précautions d'emploi.....	3
6	Recueil d'échantillons, manipulation et stockage	4
7	Procédure du Test	4
8	Interprétation quantitative et qualitative.....	7
9	Données techniques	8
10	Données relatives à la performance.....	8
11	Bibliographie	11
12	Symboles réglementaires.....	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 Usage prévu

AESKULISA® DGP-G est un enzyme-immunoessai en phase solide, qui emploie des peptides synthétiques déamidés issus de la gliadine pour la détection quantitative et qualitative d'anticorps IgG anti-peptide déamidé de la gliadine (anti-DGP pour anti-deamidated gliadin peptide) dans le sérum humain.

Cet essai est un outil qui sert au diagnostic de la maladie coeliaque (entéropathie sensible au gluten).

2 Application Clinique et Principe du Test

L'entéropathie de sensibilité au gluten ou la maladie coeliaque se caractérise par une atrophie des villosités de l'intestin grêle: elles sont aplaties, ce qui fait que la muqueuse devient lisse. Cette maladie est causée par une intolérance pathologique au gluten - et plus spécifiquement à sa fraction soluble dans l'alcool, appelée gliadine - contenu dans les céréales telles que le blé, le seigle et l'orge. Comme la maladie coeliaque est causée par l'ingestion de gluten, par conséquent le seul traitement possible est un régime composé d'aliments sans gluten pour remédier complètement à la maladie et ce régime doit être suivi à vie. Si la personne qui a été atteinte de la maladie coeliaque reconsomme de la gliadine, cela provoque le retour des symptômes. La maladie est associée aux HLA (plus de 95% des patients atteints de maladie coeliaque sont porteurs de HLA de classe II avec un génotype DQ2 codé DQA1*0501 et DQB1*0201) et elle peut se manifester à tout âge, mais à une fréquence plus élevée chez les jeunes enfants et en partie déjà chez les nouveaux nés. Les taux d'incidence de la maladie coeliaque vont de 1 pour 4000 à 1 pour 300 dans les pays européens.

Le diagnostic de la maladie coeliaque se réalise à travers une biopsie de l'intestin grêle (démontrant la muqueuse lisse) et s'appuie sur les marqueurs sérologiques. Les anticorps anti-gliadine et contre la transglutaminase tissulaire (tTg) ont ici une signification majeure. La tTg a été identifiée comme étant le principal antigène cible des EMA, anticorps dirigés contre l'endomysium (constituant extracellulaire du muscle lisse), dans un test d'immunofluorescence indirecte (IFI), qui représentait jusqu'à présent un outil important pour le diagnostic de la maladie coeliaque.

Les anticorps circulants de type IgG et IgA dirigés contre la gliadine s'observent dans le sérum de la majorité des patients atteints de la maladie coeliaque, mais pas chez tous les patients coeliaques.

Des travaux récents ont révélé que, chez les patients atteints de maladie coeliaque, les anticorps dirigés contre la gliadine se lient à un nombre très limité d'épitopes spécifiques de la molécule de gliadine. En outre, la liaison des anticorps anti-gliadine est renforcée avec la déamidation sélective de la gliadine par la transglutaminase tissulaire (tTg). C'est pourquoi les systèmes de tests utilisant des peptides déamidés et définis ont une plus grande précision diagnostique que les tests anti-gliadine existant jusqu'à maintenant.

La détermination des anticorps IgG anti-DGP (et/ou contre la tTg) a une grande valeur, car environ 2 à 5% des patients atteints de maladie coeliaque présentent une déficience en IgA, ce qui rend le diagnostic sérologique ininterprétable dans les tests servant à détecter les anticorps de la sous-classe IgA.

En tant que paramètre sérologique, la détermination d'anticorps anti-gliadine et anti-DGP chez les nouveaux-nés a une grande signification, car à cet âge les patients ne présentent pas encore d'autoanticorps contre la tTg ou contre les EMA.

Principe du test

Les échantillons de sérum dilué au 1:101ème sont incubés dans les microplaques sensibilisées avec l'antigène spécifique. Les anticorps du patient présents dans l'échantillon se lient à l'antigène. La fraction non liée est alors éliminée par lavage. Des immunoglobulines anti-humaines marquées à la peroxydase de raifort (conjugué) sont ensuite incubées et réagissent avec le complexe antigène-anticorps fixé sur les microplaques. Le conjugué non lié est alors éliminé par lavage. L'addition de substrat TMB (tétra-méthyl-benzidine) provoque une réaction enzymatique colorée (bleue), stoppée par de l'acide dilué (la couleur vire alors au jaune). L'intensité de la couleur qui se développe à partir du chromogène dépend de la quantité de conjugué lié au complexe antigène-anticorps et est proportionnelle à la concentration initiale de chaque anticorps dans l'échantillon patient.

3 Contenu du kit

À RECONSTITUER				
Élément	Quantité	Couleur du bouchon	Couleur de la solution	Description / Contenu
Tampon échantillons (5x)	1 x 20 ml	Blanc	Jaune	Concentré 5 x Tris, chlorure de sodium (NaCl), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)
Tampon de lavage (50x)	1 x 20 ml	Blanc	Vert	Concentré 50 x Tris, NaCl, Tween 20, azide de sodium < 0,1 % (conservateur)
PRÊT À L'EMPLOI				
Élément	Quantité	Couleur du bouchon	Couleur de la solution	Description / Contenu
Contrôle négatif	1 x 1,5 ml	Vert	Incolore	Sérum humain (dilué), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)
Contrôle positif	1 x 1,5 ml	Rouge	Jaune	Sérum humain (dilué), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)
Cut-off Étalon	1 x 1,5 ml	Bleu	Jaune	Sérum humain (dilué), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)
Étalons	6 x 1,5 ml	Blanc	Jaune *	Concentration de chaque étalon : 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. Sérum humain (dilué), sérum-albumine bovine (BSA), azide de sodium < 0,1 % (conservateur)
Conjugué, IgG	1 x 15 ml	Bleu	Bleu	Contenu : Immunoglobulines antihumaines conjuguées à la peroxydase de raifort, sérum-albumine bovine (BSA)
Substrat TMB	1 x 15 ml	Noir	Incolore	Tétraméthylbenzidine stabilisée et peroxyde d'hydrogène (TMB/H ₂ O ₂)
Solution d'arrêt	1 x 15 ml	Blanc	Incolore	Acide chlorhydrique à 1 M
Microplaque	12 barrettes de 8 cupules	S.O.	S.O.	Avec micro-puits sécables. Pour la sensibilisation de la plaque, voir paragraphe 1.
* L'intensité de la coloration augmente avec la concentration				
MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI				
Lecteur de microplaques avec filtre de lecture à 450 nm et filtre de référence recommandé à 620 nm (600-690 nm). Verrerie (bouteille de 100-1 000 ml), tubes à essai pour les dilutions. Agitateur Vortex, pipettes de précision (10, 100, 200, 500, 1000 µl) ou multipipette réglable (100-1000 µl). Appareil de lavage pour microplaques (pipette à répétition ou multicanaux de 300 µl ou système automatique), papier absorbant. Nos tests sont conçus pour être utilisés avec de l'eau purifiée, conformément à la définition de la United States Pharmacopeia (USP 26 - NF 21) et de la Pharmacopée européenne (Eur.Ph. 4th ed.).				

4 Stockage et durée de conservation

Conserver tous les réactifs et la microplaque entre à 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F, dans leurs emballages d'origine. Une fois préparées, les solutions reconstituées conservées à 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F sont stables pendant au moins 1 mois. Ne pas utiliser les réactifs ni la microplaque au-delà de la date de péremption indiquée sur chaque composant. Eviter une exposition intense de la solution de TMB à la lumière. Conserver les microplaques dans leur pochette hermétiquement fermée, avec le dessiccant.

5 Précautions d'emploi

5.1 Données relatives aux risques pour la santé

CE PRODUIT EST EXCLUSIVEMENT RÉSERVÉ À UN USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO. Par conséquent, seul un personnel qualifié et spécialement formé dans le domaine des méthodes de diagnostic in vitro peut réaliser l'essai. Bien que ce produit ne soit pas considéré particulièrement toxique ou dangereux dans des conditions d'usage prévues, les recommandations et précautions suivantes doivent être observées pour une sécurité maximale:

Recommandations et précautions

Ce kit contient des composants potentiellement dangereux. Bien que les réactifs du kit ne soient pas classifiés comme des irritants pour les yeux et la peau, nous recommandons d'éviter le contact de ces réactifs avec les yeux et avec la peau et d'utiliser des gants jetables.

ATTENTION ! Les calibrateurs, les contrôles et les tampons contiennent de l'azide de sodium (NaN_3) comme conservateur. NaN_3 peut être toxique en cas d'ingestion ou d'absorption au contact avec la peau ou les yeux. NaN_3 peut réagir avec le plomb et le cuivre des canalisations en formant des azides métalliques hautement explosifs. Pour prévenir l'accumulation d'azide, rincer abondamment à l'eau lors du rejet. Référez-vous s'il vous plaît aux procédures de décontamination définies par le CDC ou d'autres directives locales/nationales.

Ne pas fumer, manger ou boire durant la manipulation du kit. Ne pas pipeter à la bouche.

Tout matériel d'origine humaine utilisé dans certains réactifs de ce kit (p. ex. contrôle, standards) a été analysé avec des méthodes homologuées et les résultats ont montré qu'il était négatif en ce qui concerne les virus HbsAg, Hépatite C et HIV 1. Toutefois, aucun test ne peut garantir l'absence complète d'agents viraux dans ce type de matériel. Par conséquent, il est nécessaire de manipuler les contrôles, standards et échantillons des patients comme s'il s'agissait de transmetteurs potentiels de maladies infectieuses et conformément aux conditions requises au niveau national.

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

5.2 Règles générales pour l'utilisation

Si les informations sur le produit, y compris l'étiquetage, sont défectueuses ou incorrectes, contacter le fabricant ou le fournisseur du kit de test.

Ne pas mélanger ou substituer des réactifs ou microplaques de lots différents. Cela pourrait conduire à une variation des résultats.

Veiller à ce que tous les composants atteignent la température ambiante (20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F) avant de les utiliser. Bien les agiter et suivre le schéma d'incubation recommandé pour une réalisation optimale de l'essai.

Incubation: nous recommandons de réaliser le test à 30 °C / 86 °F pour les systèmes automatiques.

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

Toujours pipeter la solution de substrat avec des nouveaux embouts de pipette. Protéger ce réactif de la lumière. Ne jamais pipeter le conjugué avec des embouts de pipette utilisés au préalable pour d'autres réactifs.

Un diagnostic clinique définitif ne doit pas être basé uniquement sur les résultats de l'essai réalisé, mais il doit être élaboré par le médecin après avoir évalué tous les résultats cliniques et des laboratoires. Il faut vérifier le diagnostic en utilisant différentes méthodes diagnostiques.

6 Recueil d'échantillons, manipulation et stockage

Utiliser de préférence des échantillons de sérum qui ont été récemment prélevés. L'extraction de sang doit être conforme aux conditions requises au niveau national.

Ne pas utiliser d'échantillons ictériques, lipémiques, hémolysés ou contaminés par des bactéries. Les sérums avec des particules doivent être purifiés par centrifugation à basse vitesse (<1000 x g). Les échantillons de sang doivent être recueillis dans des tubes propres, secs et vides.

Après la séparation, les échantillons de sérum doivent être utilisés dans les 8 heures ; hermétiquement fermés, ils peuvent également être conservés 48 heures à une température de 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F ou congelés à - 20 °C / - 4 °F pendant des périodes plus longues.

7 Procédure du Test

7.1 Préparations à effectuer avant la distribution

Diluer les réactifs concentrés :

Diluer le tampon échantillons concentré au 1:5ème avec de l'eau distillée (par ex. 20ml + 80ml).

Diluer le tampon de lavage concentré au 1:50ème avec de l'eau distillée (par ex. 20ml + 980ml).

Pour éviter toute erreur, il est recommandé de marquer les bouchons des différents étalons.

Echantillons:

Diluer les échantillons sériques au 1:101ème avec le tampon échantillons (1x),
par ex. 1000 µl de tampon échantillons (1x) + 10 µl de sérum. Bien homogénéiser !

Lavage:

Préparer 20 ml de tampon de lavage dilué (1x) pour 8 cupules ou 200 ml pour 96 cupules
par ex. 4 ml de concentré + 196 ml d'eau distillée

Lavage automatique:

Prendre en compte les volumes supplémentaires requis pour l'amorçage et les volumes morts de l'appareil.

Lavage manuel:

Éliminer le liquide des cupules en retournant la plaque. Tapoter fermement la plaque sur un papier absorbant, en orientant les cupules vers le bas. Distribuer 300 µl de tampon de lavage dilué dans chaque cupule et attendre 20 secondes. Réaliser toute la procédure trois fois.

Microplaques:

Calculer le nombre de cupules requises pour effectuer le test. Retirer les cupules non utilisées du cadre de la plaque et les replacer dans le sac en plastique fourni, avec le dessiccant ; fermer hermétiquement et conserver entre (2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F).

7.2 Schéma de pipetage

Il est recommandé de distribuer étalons, contrôles et échantillons de la façon suivante:

Pour une interprétation QUANTITATIVE					Pour une interprétation QUALITATIVE				
	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

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 Étapes de test

Étape	Description
1.	Vérifier que les préparations de l'étape 7.1 ci-dessus ont été réalisées avant le pipetage.
2.	Selon que l'utilisateur souhaite obtenir des résultats d'interprétation quantitatifs/qualitatifs, procéder comme suit :
CONTRÔLES ET ÉCHANTILLONS	
3.	Comme expliqué dans le chapitre 7.2 ci-dessus, dans les cupules indiquées, pipeter 100 µl de : a. Étalons (CAL.A à CAL.F) pour l'interprétation QUANTITATIVE ou b. Cut-off Étalon (CC) pour l'interprétation QUALITATIVE et 100 µl de chacun des composants suivants : • Contrôle négatif (NC) et contrôle positif (PC) et • Sérum de patients dilué (P1, P2...)
4.	Incuber pendant 30 minutes à une température de 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F.
5.	Laver 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage (dilué au 1:50ème).

CONJUGUÉ

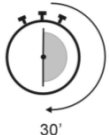
6.

CONJ



Distribuer 100 µl de conjugué dans chaque cupule.

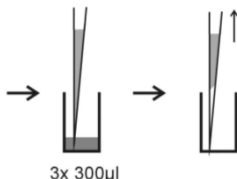
7.



Incuber pendant 30 minutes à une température de 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F.

8.

WASHB



Laver 3 fois avec 300 µl de tampon de lavage (dilué au 1:50ème).

SUBSTRAT

9.

SUB



Distribuer 100 µl de substrat TMB dans chaque cupule.

10.

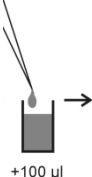


Incuber pendant 30 minutes à une température de 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F et à l'abri de la lumière.

ARRÊT

11.

STOP



Distribuer 100 µl de solution d'arrêt dans chaque cupule, dans le même ordre que pour la distribution du substrat.

12.

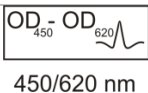


Incuber pendant au moins 5 minutes.

13.

Agiter la plaque avec précaution pendant 5 secondes.

14.



Lire l'absorbance à 450 nm (450/620 recommandée) dans les 30 minutes.

8 Interprétation quantitative et qualitative

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

Valeurs Normales	Équivoque	Résultats Positifs
< 12 U/ml	12 - 18 U/ml	>18 U/ml

Exemple de courbe d'étalonnage

Ne pas utiliser cet exemple pour l'interprétation des résultats de patients !

Étalons IgG	DO 450/620 nm	CV % (Variation)
0 U/ml	0 039	0,0
3 U/ml	0 135	1,1
10 U/ml	0 313	3,2
30 U/ml	0 552	3,6
100 U/ml	1 187	3,5
300 U/ml	2 031	3,2

Exemple de calcul

Patient	Réplications (D.O.)	Moyenne (DO)	Résultat (U/ml)
P 01	1,017/1,029	1 023	85,6
P 02	0,498/0,494	0 496	29,4

Les échantillons supérieurs à la plage maximale de l'étalon doivent être signalés par >Max. Ils doivent être dilués correctement, puis retestés. Les échantillons inférieurs à la plage de l'étalon doivent être signalés par <Min.

Pour les données spécifiques du lot, se référer à la fiche de contrôle ci-jointe. Les laboratoires peuvent effectuer un contrôle qualité interne à l'aide de leurs propres contrôles et/ou de pools sériques internes, conformément à la législation nationale.

Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs normales sur la base de ses propres techniques, contrôles, matériel et population de patients, selon ses procédures habituelles.

Si les valeurs des contrôles ne remplissent pas les critères, le test n'est pas valide et doit être recommencé.

Les problèmes techniques suivants doivent être vérifiés : Dates de péremption des réactifs (préparés), conditions de stockage, pipettes, dispositifs, photomètre, conditions d'incubation et méthodes de lavage.

Si les composants testés affichent des valeurs aberrantes ou un écart quelconque ou si les critères de validation ne sont pas satisfaits sans cause explicable, contacter le fabricant ou le fournisseur du kit de test.

Pour l'**interprétation qualitative**, lire la densité optique du calibrateur cut-off et celle des échantillons de patients. Comparer la DO des patients à la DO du calibrateur cut-off. Pour l'interprétation qualitative, nous recommandons de considérer les sérums qui se situent dans un domaine de 20% autour de la valeur du cut-off comme étant équivoques. Tous les échantillons, dont la DO est plus élevée que celle du cut-off, sont considérés positifs et les échantillons, dont la DO est moins élevée que celle du cut-off, sont considérés négatifs.

Négatif :	DO patient	<	0,8 x DO cut-off
Équivoque :	0,8 x DO patient	≤	1,2 x DO cut-off
Positif:	DO patient	>	1,2 x DO cut-off

9 Données techniques

Type d'échantillon :	sérum
Volume d'échantillon :	10µl d'échantillon dilué au 1:101ème en tampon échantillons (1x)
Temps d'incubation total :	90 minutes à température 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F
Plage d'étalonnage :	0-300 U/ml
Sensibilité analytique :	1,83 U/ml
Plage déclarable :	2,09 - 300 U/ml
Conservation :	entre 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F, dans les flacons d'origine uniquement
Nombre de tests par coffret:	96 tests

10 Données relatives à la performance

10.1 Sensibilité analytique

Pour les 62 tests de tampons d'échantillons pratiqués sur la base de l'essai **AESKULISA® DGP-G**, la limite de blanc était de 0.3 U/ml. Pour 8 échantillons faibles et négatifs, on a obtenu le résultat de 1.83 U/ml à 8 reprises.

10.2 Comparaison de méthodes

Les microplaques sont enduites de peptides synthétiques dérivés de la gliadine déamidés. Aucune réactivité croisée avec les autres autoanticorps n'a été mise en évidence.

Un total de 218 échantillons prélevés sur les adultes et les enfants (voir le tableau pour la composition) ont été testés sur la base de l'essai **AESKULISA® DGP-G** et d'un dispositif prédicat réagissant dans la plage déclarable. Les résultats sont résumés dans le tableau suivant (les échantillons d'une plage déclarable ont été exclus de la comparaison mais ont été inclus dans la validation clinique ci-dessous).

DGP-G	AESKU	Prédicat	
Diagnostic	POS (>18)	POS	Total
CD	62 (93.9 %)	59 (89.4 %)	66
CD IgA Def	15 (100 %)	15 (100 %)	15
CD suspect	30 (81.1 %)	31 (83.8 %)	37
Déf. en IgA, présomption de MC	0 (0 %)	0 (0 %)	2
DH	39 (86.7 %)	38 (84.4 %)	45
Contrôles (non-DH/MC)	3 (5.7 %)	1 (1.9 %)	53
Total	149 (68.3 %)	144 (66.1 %)	218

DGP-G		prédicat		
		POS (>20)	NÉG (≤20)	Total
AESKU	Pos (>18)	136	13	149
	Nég (≤18)	8	61	69
	Total	144	74	218

Concordance positive	95 % I.C.	
94.44 % (136/144)	89,42 %	97,16 %
Concordance négative		
82.43 % (61/74)	72,23 %	89,44 %
Concordance globale		
90.37 % ((136+61)/218)	85,72 %	93,61 %

(*) Pour les résultats équivoques, les concordances ont été comptées comme négatives et comme positives en cas de résultats positifs faibles.

Sur les 21 échantillons dont les résultats se sont révélés discordants, l'essai **AESKULISA®** a dépassé le dispositif prédictif dans 11 cas sur la base des informations supplémentaires telles que EMA, biopsie et résultats d'essais DGP d'autres classes d'immunoglobuline.

10.3 Évaluation clinique

La sensibilité de diagnostic de 93,8 % et la spécificité de diagnostic de 97,3 % ont été calculées en utilisant les MC et DH, non DH/MC et échantillons de contrôle autoimmuns ci-dessous sans tenir compte des résultats pour les échantillons des cas présumés et des contrôles sur les sujets en bonne santé (pour connaître la composition, voir le tableau ci-dessous).

DGP-G	AESKU	
Groupe de maladies	POS (>18)	Total
Contrôles autoimmuns*	0 (0 %)	54
CD	75 (94,9 %)	79
Déf. en IgA MC	16 (100 %)	16
DH	59 (90,8 %)	65
Contrôles (non-DH/MC)	3 (5,4 %)	56
Total		270

(*) contient des échantillons supplémentaires uniquement déterminés sur la base de l'essai AESKULISA et non déterminés sur la base du dispositif prédictif et des échantillons ayant révélé une valeur positive élevée sur la plage mesurable.

DGP-G	Diagnostic		
Test	POS	NÉG	Total
POS >18	150	3	153
NÉG ≤18	10	107	117
Total	160	110	270

Sensibilité de diagnostic*	95 % I.C.	
93.75 % (150/160)	88,88 %	96,57 %
Spécificité de diagnostic*		
97.27 % (107/110)	92,29 %	99,07 %

*les résultats équivoques ont été considérés comme négatifs

10.4 Linéarité

Les sérums choisis ont été testés avec ce kit et dilués de manière linéaire avec un sérum négatif selon CLSI EP06-A. Cependant, compte tenu de la nature hétérogène des anticorps humains, il existe un risque que certains échantillons ne suivent pas cette règle.

Composition		Élevé			Moyen			Faible		
Échantillon pos.	Échantillon nég.	Moyenne [U/ml]	Escompté [U/ml]	Récupération [%]	Moyenne [U/ml]	Escompté [U/ml]	Récupération [%]	Moyenne [U/ml]	Escompté [U/ml]	Récupération [%]
100,0%	0,0%	313,9	313,9	100,0%	119,2	119,2	100,0%	16,7	16,7	100,0%
87,5%	12,5%	264,1	274,7	96,1%	100,8	104,3	96,7%	15,8	14,6	108,2%
75,0%	25,0%	243,3	235,4	103,3%	91,9	89,4	102,8%	12,4	12,5	98,7%
67,5%	32,5%	199,8	211,9	94,3%	76,0	80,4	94,4%	9,8	11,3	86,5%
50,0%	50,0%	162,5	157,0	103,5%	52,6	59,6	88,2%	8,0	8,4	95,6%
37,5%	62,5%	106,4	117,7	90,4%	46,0	44,7	103,0%	6,7	6,3	107,5%
25,0%	75,0%	84,1	78,5	107,2%	24,5	29,8	82,1%	3,0	4,2	71,1%
12,5%	87,5%	42,3	39,2	107,8%	13,7	14,9	91,6%	1,2	2,1	58,0%

En prenant ces données, la plage linéaire pour **AESKULISA® DGP-G** est de 2.09 U/ml à 300 U/ml.

10.5 Précision

Afin de déterminer la précision de l'essai, on a évalué la variabilité (intra-test, inter-test et entre les lots) en effectuant une analyse de reproductibilité sur cinq échantillons de sérum sélectionnés pour représenter une plage au-dessus de la courbe standard, avec 8 répétitions et 5 passages. On a évalué la variabilité entre les lots en mesurant cinq échantillons de sérum avec 8 répétitions sur 3 lots différents.

Variabilité inter-test			Variabilité intra-test			Variabilité entre les lots		
N° d'échantillon	Moyenne (U/ml)	CV (%)	N° d'échantillon	Moyenne (U/ml)	CV (%)	N° d'échantillon	Moyenne (U/ml)	CV (%)
1	3,24	21,5	1	3,24	11,3	1	2,67	7,6
2	12,1	14,8	2	12,1	10,4	2	11,5	12,4
2b	19,5	10,0	2b	19,5	9,0	-	-	-
3	24,3	13,0	3	24,3	11,7	3	22,4	9,1
4	86,2	10,8	4	86,2	9,3	4	79,8	7,2
5	256,9	11,8	5	256,9	8,5	5	265,6	8,6

Les critères d'acceptation sont ≤15 % pour les échantillons positifs, ≤15 % pour les échantillons équivoques et ≤25 % pour les échantillons négatifs.

10.6 Étalonnage

Étant donné qu'il n'existe pas de calibration de référence internationale, cet essai est calibré en unités arbitraires (U/ml).

10.7 Plage normale

La présence d'anticorps DGP-G a été signalée pour jusqu'à 13,7% de la population normale.

Cent trente trois donneurs de sang choisis aléatoirement ont été testés pour les anticorps DGP-G. Parmi eux, 116 se situaient dans la tranche d'âge 16-45 et 17 avaient plus de 46 ans, le nombre d'hommes et de femmes étant à peu près le même. Un échantillon s'est révélé positif (0,8 %) avec une valeur de 18,2 unités, les autres étant négatifs. La valeur moyenne des échantillons était de 3,2 unités avec une déviation standard de 2,2 unités. La valeur moyenne était de 6,9 déviations standard en-dessous de la limite de positivité de 18 unités.

11 Bibliographie

- Schwartz 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 deamidated 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 Symboles réglementaires

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