AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS



AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA® DGP-Check

Ref 3515

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

Manual de Instrucciones

Contenido

1 Utilización 1
2 Aplicación clínica y principio del ensayo 1
3 Contenido del equipo 2
4 Almacenamiento y Caducidad 2
5 Precauciones 3
6 Toma, manipulación y almacenamiento de las muestras 4
7 Procedimiento del ensayo 4
8 Interpretación Cuantitativa y Cualitativa 7
9 Datos Técnicos 8
10 Datos de funcionamiento 8
11 Bibliografía 11
12 Símbolos reglamentarios 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 Utilización

***AESKULISA*® DGP-Check** es un enzimoinmunoensayo en fase sólida elaborado con péptidos sintéticos desaminados derivados de la gliadina para la detección combinada cualitativa y cuantitativa en suero humano de anticuerpos IgA e IgG frente a péptidos de gliadina desaminados (DGP).El ensayo se utiliza para el diagnóstico de la enfermedad celíaca (enteropatía por sensibilidad al gluten).

2 Aplicación clínica y principio del ensayo

La enteropatía por sensibilidad al gluten o enfermedad celiaca se caracteriza por la atrofia de las vellosidades del intestino delgado provocando la denominada mucosa lisa. Está causada por una intolerancia patológica a la Gliadina, que es la fracción soluble en alcohol del gluten en el trigo, en el centeno y en la cebada. Como la enfermedad celiaca está causada por la ingesta de gluten, una dieta libre de gluten, en consecuencia, cura completamente la enfermedad y así debe ser mantenida toda la vida. Si se reinicia el consumo de Gliadina se provoca el retorno de los síntomas. La enfermedad está asociada a HLA (>95% de los apcientes tienen DQ2 enREFd por DQA1*0501 y DQB1*0201) y se manifiesta a cualquier edad con un pico de inicio en la infancia temprana incluso en neonatos. Los ratios de incidencia van de 1 de cada 4000 hasta 1 de cada 300 en los países europeos.

El diagnóstico de la enfermedad celiaca se realiza a través de biopsia del intestino delgado (demostrando la mucosa lisa) y se apoya a través de marcadores serológicos. Los anticuerpos contra Gliadina y Transglutaminasa tisular (tTG) son de gran significación. La tTG ha sido identificada como el antígeno diana principal de los EMA, que son los anticuerpos que se dirigen al endomisio (constituyente extracelular del músculo liso) en el test de inmunofluorescencia indirecta (IFI), el cual ha sido durante mucho tiempo una herramienta importante para el diagnóstico de la enfermedad celiaca.

Los anticuerpos IgG y IgA circulantes anti-Gliadina se encuentran en el suero de la mayoría pero no de todos los pacientes con enfermedad celiaca, aunque la especificidad de estos anticuerpos es significativamente menor comparada a la de la tTG y los EMA.

Estudios recientes han mostrado que los anticuerpos antigliadina de los pacientes celíacos se fijan a un número muy limitado de epítopos específicos de la molécula de gliadina7,8. La desaminación selectiva de la gliadina por la transglutaminasa tisular aumenta su unión a los anticuerpos antigliadina. Los ensayos en los que se utilizan péptidos definidos y desaminados son más exactos para diagnosticar la enfermedad celíaca que los ensayos estándar antigliadina.

La determinación de anticuerpos IgG anti-Gliadina (y/o tTG) es especialmente de gran valor ya que aproximadamente el 2% - 5% de los pacientes celiacos muestran una deficiencia de IgA y de ahí no ser diagnosticados a través de tests de detección de la subclase IgA.

Los anticuerpos anti-Gliadina pueden ser el único marcador serológico en neonatos ya que los autoanticuerpos anti-tTG y EMA no están presentes a esas edades.

Principio del test

Las muestras de suero diluidas 1:101 se incuban en la microplaca revestida con el antígeno específico. Los anticuerpos de los pacientes, si están presentes en la muestra, se unen al antígeno. La fracción no unida es eliminada por el lavado en el paso siguiente. Después, las inmunoglobulinas anti-humanas conjudagas con peroxidasa (conjugado) se incuban y reaccionan con el complejo antígeno-anticuerpo de las muestras dentro de la microplaca. El conjugado no unido es retirado a través del lavado en el paso siguiente. La adición del substrato-TMB genera una reacción colorimétrica (azul) enzimática que se detiene a través de ácido diluido (el color cambia a amarillo). La intensidad de formación de color a partir del cromógeno depende de la cantidad de conjugado unida al complejo antígeno-anticuerpo y es proporcional a la concentración inicial de los respectivos anticuerpos en la muestra del paciente.

3 Contenido del equipo

PARA SER RECONSTITUIDO				
Artículo	Cantidad	Color del tapón	Color de la solución	Descripción/Contenido
Tampón de muestra (5x)	1 x 20 ml	Blanco	Amarillo	Concentrado 5 x Tris, Cloruro de sodio (NaCl), albúmina de suero bovino (BSA, por sus siglas en inglés), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Tampón de lavado (50x)	1 x 20 ml	Blanco	Verde	Concentrado 50 x Tris, Cloruro de sodio (NaCl), Tween 20, azida sódica < 0,1 % (conservante)
LISTO PARA EL USO				
Artículo	Cantidad	Color del tapón	Color de la solución	Descripción/Contenido
Control negativo	1 x 1,5 ml	Verde	Incoloro	Suero humano (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Control positivo	1 x 1,5 ml	Rojo	Amarillo	Suero humano (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Calibrador cut-off	1 x 1,5 ml	Azul	Amarillo	Suero humano (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Calibradores	6 x 1,5 ml	Blanco	Amarillo *	Concentración de cada calibrador: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. Suero humano (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Conjugado, IgA/G/	1 x 15 ml	Blanco	Rojo	Contiene: Inmunoglobulinas anti-humanas conjugadas con peroxidasa de rábano picante, albúmina de suero bovino (BSA)
Substrato TMB	1 x 15 ml	Negro	Incoloro	Terametilbenzidina estabilizada y peróxido de hidrógeno (TMB/H_2O_2)
Solución de paro	1 x 15 ml	Blanco	Incoloro	Ácido clorhídrico 1M
Placa Microtiter	12 x 8 tiras de pocillos	N/D	N/D	Con tiras rompibles de pocillos. Consulte el párrafo 1 para obtener información sobre revestimiento.

* La intensidad del color aumenta con la concentración

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO
Filtro de lectura de 450 nm para lector de tiras Microtiter y filtro de referencia recomendado de 620 nm (600-690 nm). Equipo de cristal (cilindro 100-1000 ml), tubos de ensayo para disoluciones. Mezclador espiral, pipetas de precisión (10, 100, 200, 500, 1000 µl) o pipeta múltiple ajustable (100-1000 µl). Dispositivo de lavado de la microplaca (pipeta de repetición o microcanal de 300 µl o sistema automatizado), papel absorbente. Nuestras pruebas se han diseñado para uso con agua destilada, de acuerdo con la definición de las farmacopeas de Estados Unidos (USP 26 - NF 21) y Europa (Eur.Ph. 4ª ed.).

4 Almacenamiento y Caducidad

Guarde todos los reactivos y la microplaca a 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F, en sus envases originales. Una vez preparadas, las soluciones reconstituidas son estables durante 1 mes a 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F, por lo menos. Los reactivos y la microplaca deben ser utilizados solamente dentro del margen de caducidad indicado en cada componente. Evite la exposición de la solución TMB a la luz intensa. Guarde las microplacas en su sobre correspondiente, incluyendo el desecante, y séllelo bien.

5 Precauciones

5.1 Datos de riesgo para la salud

ESTE PRODUCTO ES SOLO PARA EL USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO . Por lo tanto, solamente el personal formado y especialmente asesorado en los métodos de diagnóstico in vitro puede realizar el ensayo. Aunque este producto no se considera especialmente tóxico ni peligroso en las condiciones de uso previsto, siga estas recomendaciones para garantizar un nivel de seguridad óptimo:

Recomendaciones y precauciones

Este equipo contiene componentes potencialmente peligrosos. Aunque los reactivos del equipo no están clasificados como irritantes de los ojos y la piel, recomendamos evitar el contacto de los mismos con los ojos y con la piel y utilizar guantes desechables.

¡AVISO! Los calibradores, controles y agentes contienen ázida de sodio (NaN_3) como conservante. El NaN_3 puede ser tóxico si se ingiere o se absorbe por medio de la piel o de los ojos. El NaN_3 puede reaccionar con la fontanería de plomo y de cobre y formar ázida metálica muy explosiva. Al tirar tirarla, deje correr una gran cantidad de agua para evitar que la ázida tome consistencia. Por favor, consulte los procesos de descontaminación del CDC u otras directrices locales o nacionales.

No fume, coma o beba mientras manipule el equipo. No pipetee con la boca.

Todo el material de fuente humana utilizado en algunos reactivos de este equipo (por ejemplo controles, standards) ha sido analizado a través de métodos aprobados y ha resultado ser negativo para HbsAg, Hepatitis C y HIV 1. No obstante, ningún test puede completamente garantizar la ausencia de agentes virales en ese tipo de material. Por lo tanto, manipule los controles, standards y muestras de los pacientes como si se trataran de auténticos transmisores de enfermedades infecciosas y según los requerimientos de manipulación de su país.

Como se indica en la sección Contenido del equipo, el equipo contiene material de origen animal que debe manipularse de acuerdo con la normativa nacional.

5.2 Instrucciones generales para la utilización

En caso de que observe defectos o datos incorrectos en la información del producto, incluidas las etiquetas, póngase en contacto con el fabricante o proveedor del producto.

No mezcle o sustituya reactivos o microplacas de números de lote diferentes. Esto podría llevar a una variación de los resultados.

Deje que todos los componentes alcancen la temperatura (20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F) antes de utilizarlos. Agítelos bien y siga el esquema de incubación recomendado para una óptima realización del ensayo.

Incubación: Se recomienda realizar las pruebas a 30 °C / 86 °F para sistemas automatizados.

No exponga nunca los componentes a temperaturas más altas de 37°C/ 98,6 °F.

Pipetee siempre la solución de substrato con puntas nuevas. Protega este reactivo de la luz. Nunca pipetee el conjugado con puntas previamente utilizadas con otros reactivos.

Un diagnóstico clínico definitivo no debe estar basado solamente en los resultados del ensayo realizado. Debe ser elaborado por el médico después de haber evaluado todos los hallazgos clínicos y de laboratorio. Es necesario verificar el diagnóstico por medio de distintos métodos.

6 Toma, manipulación y almacenamiento de las muestras

Utilice preferentemente muestras de suero recién extraídas. La extracción de sangre debe seguir los requerimientos de protocolo de su país.
No utilice muestras ictéricas, lipémicas, hemolizadas o contaminadas por bacterias. Los sueros con partículas deben ser purificados por centrifugación a baja velocidad (<1000 x g). Las muestras de sangre deben ser recogidas en tubos limpios, secos y vacíos.

Tras la separación, las muestras de plasma han de utilizarse durante las primeras 8 horas y conservarse herméticamente cerradas a 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F hasta 48 horas o congeladas a - 20 °C / - 4 °F durante periodos más prolongados

7 Procedimiento del ensayo

7.1 Preparativos antes de dispensar

Diluya los reactivos concentrados:

Diluya el tampón de muestra concentrado a 1:5 con agua destilada (p.e. 20 ml en 80 ml)
Diluya el tampón de lavado concentrado a 1:50 con agua destilada (p.e. 20 ml en 980 ml).

A fin de evitar errores, es aconsejable marcar las tapas de los distintos calibradores.

Muestras:

Diluya las muestras de suero a 1:101 con tampón de muestra (1x)

p.e. 1000 µl tampón de muestra (1x) + 10 µl suero. Mezcle bien la dilución.

Lavado:

Prepare 20 ml de tampón de lavado diluido (1x) para 8 pocillos o 200 ml para 96 pocillos p.e. 4 ml de concentrado en 196 ml de agua destilada.

Lavado automático:

Tenga en cuenta los volúmenes de exceso requeridos para purgar el instrumento y el volumen muerto en el dispensador del aparato.

Lavado manual:

Descarte el líquido de los pocillos invertiendo la placa. Golpee vigorosamente el marco con los micropocillos sobre papel absorbente limpio manteniendo la placa invertida. Dispense 300 µl de tampón de lavado diluido dentro de cada pocillo y espere 20 segundos. Repita el procedimiento entero dos veces más.

Microplacas:

Calcule el número de pocillos necesarios para el ensayo. Saque los pocillos no utlizados del marco, póngalos de nuevo en la bolsa de plástico suministrada junto con el desecante y séllela bien (2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F).

7.2 Esquema de dispensación

Se sugiere dispensar los calibradores, controles y muestras como sigue:

Para una interpretación cuantitativa

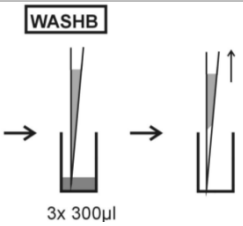
	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1	
B	Cal A	Cal E	P1	
C	Cal B	Cal F	P2	
D	Cal B	Cal F	P2	
E	Cal C	PC	P3	
F	Cal C	PC	P3	
G	Cal D	NC	…	
H	Cal D	NC	…	

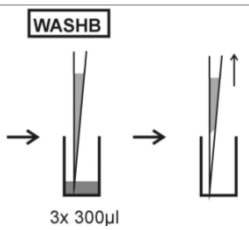
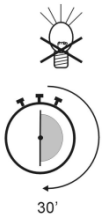
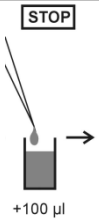
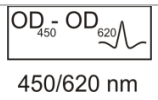
Para una interpretación cualitativa

	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 Esquema de trabajo

Paso	*Descripción*
1.	Asegúrese de que los preparativos del paso 7.1 (arriba) se han llevado a cabo antes del pipeteado.
2.	Siga los pasos descritos a continuación de acuerdo con los resultados de interpretación cuantitativa y cualitativa que se deseen obtener:
	CONTROLES y MUESTRAS
3.	 Pipetee en los pocillos designados (tal como se describe en el capítulo 7.2) 100 µl de: a. Calibradores (CAL.A a CAL.F) para interp. *CUANTITATIVA* o b. Calibrador cut-off (CC) para interp. *CUALITATIVA* y 100 µl de cada uno de los siguientes: • Control negativo (CN) y control positivo (CP), y • Suero diluido de los pacientes (P1, P2...)
4.	 Incube durante 30 minutos a 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F.
5.	 Lave tres veces con 300 µl de tampón de lavado (diluido al 1:50).

	CONJUGADO	
6.		Pipetee 100 µl de conjugado en cada pocillo.
7.		Incube durante 30 minutos a 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F.
8.		Lave tres veces con 300 µl de tampón de lavado (diluido al 1:50).
	SUBSTRATO	
9.		Pipetee 100 µl de substrato TMB en cada pocillo.
10.		Incube durante 30 minutos a 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F y evite que reciba luz intensa.
	PARO	
11.		Pipetee 100 µl de solución de paro en cada pocillo siguiendo el mismo orden que al pipetear el substrato.
12.		Incube durante 5 minutos como mínimo.
13.		Agite la placa suavemente durante 5 seg.
14.		Lea la absorbancia a 450 nm (se recomienda 450/620 nm) durante los 30 minutos siguientes.

8 Interpretación Cuantitativa y Cualitativa

Para una **interpretación cuantitativa** establezca la curva standard trazando la densidad óptica(DO) de cada calibrador (eje y) con respecto a los correspondientes valores de concentración en U/ml (eje x). Para unos mejores resultados recomendamos coordenadas log/lin y un ajuste a 4-PL. Partiendo de la DO de cada muestra, lea la correspondiente concentración de anticuerpo expresada en U/ml.

Rango Normal	Indeterminado	Resultados Positivos
< 16 U/ml	16 - 24 U/ml	>24 U/ml

Ejemplo de curva standard
NO utilice este ejemplo para interpretar el resultado del paciente

Calibradores IgA/G	*DO 450/620 nm*	*CV % (Variación)*
0 U/ml	0,053	0,3
3 U/ml	0,176	1,4
10 U/ml	0,350	2,3
30 U/ml	0,622	3,9
100 U/ml	1,203	1,9
300 U/ml	2,000	6,6

Ejemplo de cálculo

Paciente	Replicado (DO)	Media (DO)	Resultado (U/ml)
P 01	0,925/0,985	0,955	50,5
P 02	0,491/0,489	0,490	20,1

Las muestras que se encuentren por encima del rango máximo de calibrador se deberán especificar como >Máx. Será necesario diluirlas según se considere apropiado y repetir el ensayo. Las muestras que se encuentren por debajo del rango del calibrador deberán especificarse como < Mín.

Para conocer los datos específicos de lote, consulte el documento adjunto de control de calidad. Los laboratorios deberían realizar un Control de Calidad interno utilizando controles propios y/o un „pool“ de sueros interno tal y como contemplan las regulaciones nacionales.

Cada laboratorio debería establecer su rango normal propio basado en sus propias técnicas, controles, equipamiento y población según sus propios procedimientos establecidos.

En caso de que los valores de los controles no se ajusten a los criterios, el ensayo se considerará inválido y deberá repetirse.

Será necesario realizar las siguientes comprobaciones de problemas técnicos: Fechas de caducidad de los reactivos (preparados), condiciones de almacenamiento, pipetas, dispositivos, fotómetro, condiciones de incubación y métodos de lavado.

Si al analizar los elementos se obtuvieron valores exagerados, se produjo algún tipo de desviación o los criterios de validación no se cumplieron por motivos inexplicables, póngase en contacto con el fabricante o el proveedor del producto.

Para la **interpretación cualitativa** lea la densidad óptica del calibrador cut-off y la de las muestras de los pacientes. Compare las DO de los pacientes con la DO del calibrador cut-off. Para la interpretación cualitativa, recomendamos que establezca un rango del 20% al rededor del valor del cut-off como zona indeterminada. Todas las muestras que tengan DO superior a este rango se consideran positivas y las muestras con valores de DO inferiores a este rango se consideran negativas.:

Negativo		**DO paciente**	**<**	**0,8 x DO cut-off**		
Indeterminado	**0,8 x**	**DO cut-off**	**≤**	**DO paciente**	**≤**	**1,2 x DO cut-off**
Positivo		**DO paciente**	**>**	**1,2 x OD cut-off**		

9 Datos Técnicos

Muestra:	suero
Volumen de muestra:	10 µl de muestra diluida a 1:101 con tampón de muestra 1x
Tiempo total de incubación:	90 minutos a temperatura 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F
Rango de calibración:	0-300 U/ml
Sensibilidad analítica:	1,44 U/ml
Rango reportable:	**1,84-300 U/ml**
Almacenamiento:	a 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F utilice solo los viales originales
Número de determinaciones:	96 tests

10 Datos de funcionamiento

10.1 Sensibilidad analítica

Los 60 análisis del tampón de muestra en ***AESKULISA*® DGP-Check** arrojaron un límite de blanco de 0,202 U/ml y los 8 análisis de las 8 muestras de bajo negativo tuvieron como resultado un límite de detección de 1,44 U/ml.

10.2 Comparación de métodos

Las microplacas se han revestido con péptidos sintéticos desaminados derivados de la gliadina. No se han encontrado reactividades cruzadas con otros autoanticuerpos.

Se analizó un total de 216 muestras pediátricas y adultas (consulte la composición en la tabla) en el ***AESKULISA*® DGP-Check** y en un dispositivo homologado con una reacción dentro del rango reportable. Los resultados se resumen en la siguiente tabla (las muestras fuera del rango reportable se excluyeron de la comparación, pero se incluyeron en la validación clínica inferior):

DGP-Check	***AESKULISA*®**	**Dispositivo homologado**	
Diagnóstico	**POS. (>24)**	**POS.**	**Total**
Enfermedad celiaca	59 (96,7%)	54 (88,5%)	61
Enfermedad celiaca con deficiencia de IgA	14 (93,3%)	15 (100%)	15
Sospecha de enfermedad celiaca	25 (67,6%)	33 (89,2%)	37
Sospecha de enfermedad celiaca con deficiencia de IgA	1 (50%)	0 (0%)	2
Dermatitis herpetiforme	27 (81,8%)	31 (93,9%)	33
Controles sin enfermedad celiaca/dermatitis herpetiforme	3 (5,4%)	2 (3,6%)	56
Suero diluido	1 (8,3%)	8 (66,7%)	12
Total	**130 (60,2%)**	**143 (66,2%)**	**216**

DGP-Check		Dispositivo homologado		
		POS. (>20)	**Neg. (≤20)**	**Total**
AESKU	**Pos. (>24)**	122	8	130
	Neg. (≤24)	21	65	86
	Total	143	73	216

Coincidencia positiva	Índice de confianza del 95%	
85,31% (122/143)	78,59%	90,19%
Coincidencia negativa		
89,04% (65/73)	79,84%	94,34%
Coincidencia general		
86,57% ((122+65)/216)	81,38%	90,49%

(*) Para calcular las coincidencias, los resultados equívocos se consideraron como negativos y los resultados de bajo positivo como positivos.

De las 22 muestras con resultados discrepantes (sin contar las 7 muestras diluidas discrepantes), el ***AESKULISA***® obtuvo mejores resultados que el dispositivo homologado en 7 casos tomando como base la información adicional, como los EMA, la biopsia y los resultados de los ensayos de DGP de otras clases de inmunoglobulina.

10.3 Evaluación clínica

Se calculó una sensibilidad diagnóstica del 94,4% y una especificidad diagnóstica del 97,7% a partir de los resultados de 289 muestras: las muestras mencionadas de enfermedad celiaca y dermatitis herpetiforme, las de controles sin presencia de enfermedad celiaca ni dermatitis herpetiforme y las de controles autoinmunes; se omitieron los resultados de las muestras con sospecha, de las muestras diluidas y de las muestras con deficiencia de IgA (consulte la composición en la tabla inferior).

DGP-Check	**AESKU**	
Grupo con enfermedades	**POS. (>24)**	**Total**
Controles autoinmunes*	0(0%)	73
Enfermedad celiaca	77(97,5%)	79
Enfermedad celiaca con deficiencia de IgA	15(93,8%)	16
Dermatitis herpetiforme	59(90,8%)	65
Controles (sin dermatitis herpetiforme/enfermedad celiaca)	3(5,4%)	56
Total	**154(53,3%)**	**289**

(*) Se incluyen muestras adicionales solo determinadas en el AESKULISA y no determinadas en el dispositivo homologado y muestras que mostraron una alta positividad fuera del rango de medición.

DGP-Check	Diagnóstico		
Ensayo	**POS.**	**NEG.**	**Total**
POS. >24	151	3	154
NEG. ≤24	9	126	135
Total	160	129	289

Sensibilidad diagnóstica*	Índice de confianza del 95%	
94,38% (151/160)	89,66%	97,01%
Especifidad diagnóstica*		
97,67% (126/129)	93,39%	99,21%

*Los resultados equívocos se consideraron como negativos

10.4 Linealidad

Se analizaron los sueros seleccionados con este kit y se observó su dilución lineal con un suero negativo según CLSI EP06-A. No obstante, dada la naturaleza heterogénea de los autoanticuerpos humanos, es posible que haya muestras que no sigan esta regla.

Composición		Alta			Media			Baja		
Muestra pos.	Muestra neg.	Media [U/ml]	Esperada [U/ml]	Recuperación [%]	Media [U/ml]	Esperada [U/ml]	Recuperación [%]	Media [U/ml]	Esperada [U/ml]	Recuperación [%]
100.0%	0.0%	392.5	392.5	100.0%	156.5	156.5	100.0%	14.8	14.8	100.0%
87.5%	12.5%	326.5	343.4	95.1%	131.1	136.9	95.8%	11.2	12.9	86.9%
75.0%	25.0%	287.3	294.4	97.6%	120.4	117.3	102.6%	10.5	11.1	94.6%
67.5%	32.5%	241.0	264.9	90.9%	88.3	105.6	83.6%	7.6	10.0	75.9%
50.0%	50.0%	199.8	196.3	101.8%	78.1	78.2	99.8%	6.5	7.4	88.6%
37.5%	62.5%	159.8	147.2	108.6%	58.5	58.7	99.7%	4.5	5.5	82.0%
25.0%	75.0%	79.2	98.1	80.7%	36.5	39.1	93.3%	3.5	3.7	94.4%
12.5%	87.5%	26.9	49.1	54.8%	11.2	19.6	57.0%	1.2	1.8	62.4%

De acuerdo con estos datos, el rango lineal para ***AESKULISA®* DGP-Check** es de 1,84 U/ml a 300 U/ml.

10.5 Precisión

Para determinar la precisión del ensayo, se evaluó la variabilidad (intraensayo, interensayo y lote a lote) 5 veces con 8 repeticiones mediante el examen de su reproducibilidad en cinco muestras de suero seleccionadas para representar un rango sobre la curva estándar. La variabilidad lote a lote se calculó mediante la medición de cinco muestras de suero en 8 repeticiones en 3 lotes diferentes.

Variabilidad interensayo			Variabilidad intraensayo			Variabilidad lote a lote		
N.º de muestra	Media (U/ml)	CV (%)	N.º de muestra	Media (U/ml)	CV (%)	N.º de muestra	Media (U/ml)	CV (%)
1	11.5	12.2	1	11.53	10.8	1	10.4	12.4
2	18.9	12.2	2	18.88	10.3	2	20.3	10.6
3	28.8	13.0	3	28.83	12.5	3	30.3	11.0
4	64.0	12.0	4	63.98	8.2	4	62.1	8.1
5	128.0	14.4	5	128.01	7.1	5	127.0	8.1

Los criterios de aceptación son ≤15% para muestras positivas, ≤15% para muestras equívocas y ≤25% para muestras negativas

10.6 Calibración

Debido a la no existencia de una calibración de referencia internacional, este ensayo está calibrado en unidades arbitrarias (U/ml).

10.7 Rango normal

Se ha registrado la presencia de anticuerpos DGP-A en hasta el 10% de la población normal y de anticuerpos DGP-G en hasta el 13,7%.

Se analizó la sangre de 133 donantes aleatorios para hallar anticuerpos DGP-Check. De estos; 116 tenían una edad comprendida entre los 16 y los 45 años y 17 eran mayores de 46 años; además, contenían un número similar de hombres y mujeres. Una muestra (0,8%) fue positiva y seis (4,5%) fueron equívocas, la muestra más elevada fue de 28,4 unidades y el resto fueron negativas. El valor medio de las muestras fue de 8,2 unidades con una desviación estándar de 4,4 unidades. El valor medio es de 3,6 desviaciones estándar por debajo del límite de positividad de 24 unidades.

11 Bibliografía

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 reglamentarios

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	