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

Istruzioni per l'uso

Indice

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

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 Finalità d'uso

***AESKULISA*® DGP-Check** è un test immunologico enzimatico in fase solida che impiega peptidi sintetici, derivati da gliadina deamidata per la determinazione quantitativa e qualitativa completa degli anticorpi IgA e IgG anti-peptidi di gliadina deamidati (DGP) nel siero umano.
Il test costituisce uno strumento per la diagnosi della malattia celiaca (enteropatia sensibile al glutine).

2 Applicazione clinica e principio del test

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

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

La diagnosi definitiva, con determinazione della tipica mucosa piatta, viene effettuata mediante biopsia dell'intestino tenue accompagnata da marker sierologici. Gli anticorpi anti-gliadina e anti-transglutaminasi tissutale (tTG) sono in questo caso particolarmente importanti. La tTG è stata identificata come l'antigene target degli EMA.

La ricerca recente ha dimostrato che gli anticorpi reattivi contro gliadina dei pazienti celiachi legano un numero molto ridotto di epitopi specifici sulla molecola gliadina.7,8 La deamidazione selettiva della gliadina ad opera della transglutaminasi tissutale aumenta il legame degli anticorpi anti-gliadina. I test che usano peptidi deamidati e definiti hanno dimostrato un'accuratezza diagnostica maggiore per la malattia celiaca rispetto ai test anti-gliadina standard.9, 10, 11

La determinazione di anticorpi IgG alla gliadina (e/o tTG) è particolarmente significativa, in quanto il 2%-5% circa di pazienti celiaci mostrano una deficienza di IgA e vengono quindi tralasciati nei test che rilevano gli anticorpi della sottoclasse IgA.

Inoltre, gli anticorpi della gliadina e di DGP potrebbero essere gli unici marker sierologici in neonati, in quanto gli anticorpi anti-tTG ed EMA non sono riscontrabili in questa età.

Principio del test

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

3 Componenti del kit

DA DILUIRE PRIMA DELL'USO				
Componente	Quantità	Colore del tappo	Colore della soluzione	Descrizione / Componenti
Tampone per la diluizione dei campioni (5x)	1 da 20 mL	Bianco	Giallo	concentrato 5 x Tris, cloruro di sodio (NaCl), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide > 0,1 % (conservante)
Tampone di lavaggio (50x)	1 da 20 mL	Bianco	Verde	concentrato 50 x Tris, NaCl, Tween 20, sodio azide > 0,1 % (conservante)
PRONTI PER L'USO				
Componente	Quantità	Colore del tappo	Colore della soluzione	Descrizione / Componenti
Controllo negativo	1 da 1,5 mL	Verde	Incolore	Siero umano (diluito), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide < 0,1 % (conservante)
Controllo positivo	1 da 1,5 mL	Rosso	Giallo	Siero umano (diluito), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide < 0,1 % (conservante)
Calibratore cut-off	1 da 1,5 mL	Blu	Giallo	Siero umano (diluito), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide < 0,1 % (conservante)
Calibratori	6 da 1,5 mL	Bianco	Giallo *	Concentrazione di ciascun calibratore: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/mL. Siero umano (diluito), albumina sierica bovina (BSA), sodio azide < 0,1 % (conservante)
Coniugato, IgA/G	1 da 15 mL	Bianco	Rosso	Componente: Immunoglobuline anti-umane coniugate con perossidasi di rafano, albumina sierica bovina (BSA)
Substrato TMB	1 da 15 mL	Nero	Incolore	Tetrametilbenzidina stabilizzata e perossido di idrogeno (TMB/H_2O_2)
Soluzione di stop	1 da 15 mL	Bianco	Incolore	Acido cloridrico 1 M
Microstrip	12 x 8 pozzetti	Nds	Nds	Con pozzetti frazionabili singolarmente. Per il rivestimento si veda il punto 1.
* Il colore si intensifica con la concentrazione				
MATERIALE OCCORRENTE, MA NON FORNITO				
Lettore di piastre microtitolo da 450 nm per la lettura dei filtri e filtri di riferimento raccomandati da 620 nm (600-690 nm). Recipienti in vetro (cilindri da 100-1000 mL), provette da test per diluizioni. Mixer Vortex, pipette di precisione (10, 100, 200, 500, 1000 µL) o pipette multiple regolabili (100-1000 µL). Dispositivo di lavaggio delle micropiastre (pipetta ripetitrice o multicanale da 300 µL o sistema automatizzato), carta assorbente. I nostri test sono stati studiati per essere eseguiti con acqua depurata, conformemente alle disposizioni della Farmacopea degli Stati Uniti (USP 26 - NF 21) e della Farmacopea Europea (Eur.Ph. 4a ed.).				

4 Conservazione e stabilità

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

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

5 Avvertenze e misure precauzionali

5.1 Rischio per la salute

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

Raccomandazioni e misure precauzionali

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

ATTENZIONE! Calibratori, trattamenti e tamponi contengono sodio azide (NaN_3) come conservante. NaN_3 può risultare tossico se ingerito o assorbito attraverso la pelle o gli occhi. NaN_3 può reagire con piombo e rame formando azidi metallici altamente esplosivi. Dopo averlo gettato, risciacquare con una grande quantità di acqua per impedire la formazione di azidi. Si prega di fare riferimento alle procedure di decontaminazione citate dal CDC o a altre linee guida locali o nazionali.

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

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

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

5.2 Avvertenze di natura generale

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

Non utilizzare reagenti di lotti diversi; prestare attenzione alla corretta calibrazione delle pipette e delle attrezzature di laboratorio. Cambiare puntale per ogni reattivo, standard, controllo o campione.

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

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

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

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

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

6 Prelievo dei campioni, preparazione e conservazione

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

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

7 Esecuzione del test

7.1 Preparazione

Diluizione dei reagenti concentrati:

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

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

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

Diluizioni dei campioni dei pazienti:

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

Lavaggio:

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

Lavaggio automatizzato:

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

Lavaggio manuale:

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

Micropiastra:

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

7.2 Schema di dispensazione

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

Per l'analisi QUANTITATIVA

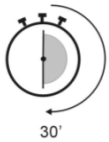
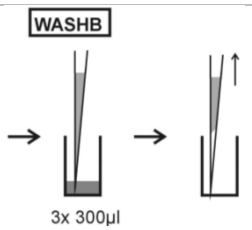
	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1	
B	Cal A	Cal E	P1	
C	Cal B	Cal F	P2	
D	Cal B	Cal F	P2	
E	Cal C	PC	P3	
F	Cal C	PC	P3	
G	Cal D	NC	…	
H	Cal D	NC	…	

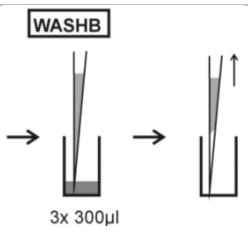
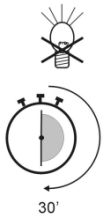
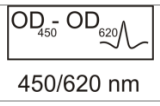
Per l'analisi QUALITATIVA

	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 Fasi del test

Pas.	*Descrizione*
1.	Prima di dispensare controllare che le preparazioni del passaggio 7.1 siano state eseguite.
2.	Applicare i passaggi seguenti in base ai risultati desiderati per l'analisi quantitativa/qualitativa:
	CONTROLLI E CAMPIONI
3.	 Seguendo le indicazioni del paragrafo 7.2 dispensare nei rispettivi pozzetti 100 µL di: a. Calibratori (da CAL.A a CAL.F) per analisi *QUANTITATIVA* o b. Calibratore cut-off (CC) per analisi *QUALITATIVA* e 100 µL di: • Controllo negativo (NC) e controllo positivo (PC) e • Siero diluito del paziente (P1, P2...)
4.	 Incubare per 30 minuti a temperatura 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F.
5.	 Lavare 3 volte con 300 µL di tampone di lavaggio (diluito 1:50).

	CONIUGATO	
6.		Dispensare 100 µL di coniugato in ciascun pozzetto.
7.		Incubare per 30 minuti a temperatura 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F.
8.		Lavare 3 volte con 300 µL di tampone di lavaggio (diluito 1:50).
	SUBSTRATO	
9.		Dispensare 100 µL di substrato TMB in ciascun pozzetto.
10.		Incubare per 30 minuti a temperatura 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F, proteggere da sorgenti luminose intense.
	STOP	
11.		Dispensare 100 µL di soluzione stop in ciascun pozzetto, rispettando la successione in cui è stato aggiunto il substrato.
12.		Incubare per almeno 5 minuti.
13.		Agitare delicatamente la piastra per 5 secondi.
14.		Misurare la densità ottica a 450 nm (raccomandati 450/620 nm) entro 30 minuti.

8 Analisi quantitativa e qualitativa

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

Range normale	Intermedio	Risultati positivi
< 16 U/ml	16 - 24 U/ml	>24 U/ml

Esempio di analisi
NON utilizzare questo esempio per l'interpretazione dei risultati dei pazienti.

Calibratori IgA/G	OD 450/620 nm	CV % (Varianza)
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

Esempio di calcolo

Paziente	Replicati (OD)	Media (OD)	Risultato (U/mL)
P 01	0,925/0,985	0,955	50,5
P 02	0,491/0,489	0,490	20,1

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

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

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

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

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

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

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

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

9 Dati tecnici

Materiale del campione:	Siero
Volume del campione:	10 µL di siero per diluizione 1:101 con 1x tampone per la diluzione dei camponi diluito
Tempo totale di incubazione:	90 minuti a temperatura ambiente 20 - 32 °C / 68 - 89,6 °F
Range di misura:	0-300 U/mL
Sensibilità analitica:	1,44 U/mL
Range segnalabile:	**1,84 – 300 U/ml**
Conservazione:	a 2 - 8 °C / 35,6 - 46,4 °F nei flaconi originali
Numero di determinazioni:	96 tests

10 Dati del test/Caratteristiche del test

10.1 Sensibilità analitica

Test del tampone del campione svolti 60 volte **in *AESKULISA*® DGP-Check** hanno dato un limite di prova in bianco di 0,202 U/ml, mentre 8 campioni leggermente negativi per 8 volte hanno dato un limite di rilevamento pari a 1,44 U/mL.

10.2 Raffronto tra i metodi

Le micropiastre sono rivestite di peptidi sintetici deamidati derivati dalla gliadina. Non è stata riscontrata reattività trasversale con altri autoanticorpi.

Un totale di 216 campioni pediatrici e di adulti (consultare la composizione nella tabella) sono stati testati in ***AESKULISA*® DGP-Check** e in un dispositivo omologato reattivo nel range segnalabile. I risultati sono riassunti nella seguente tabella (sono stati esclusi dal raffronto i campioni al di fuori del range segnalabile, ma sono stati inclusi nella convalida clinica sottostante):

DGP-Check	***AESKULISA*®**	**Diagnosi**	
dispos. omologato	**POS (>24)**	**POS**	**Totale**
CD	59 (96,7%)	54 (88,5%)	61
CD IgA Def	14 (93,3%)	15 (100%)	15
Sospetti di CD	25 (67,6%)	33 (89,2%)	37
IgA Def sospetti di CD	1 (50%)	0 (0%)	2
DH	27 (81,8%)	31 (93,9%)	33
parametri di controllo non-DH/CD	3 (5,4%)	2 (3,6%)	56
siero diluito	1 (8,3%)	8 (66,7%)	12
Totale	**130 (60,2%)**	**143 (66,2%)**	**216**

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

Concordanza positiva	95% C.I.	
85.31% (122/143)	78,59%	90,19%
Concordanza negativa		
89.04% (65/73)	79,84%	94,34%
Concordanza globale		
86.57% ((122+65)/216)	81,38%	90,49%

(*) Le concordanze sono state calcolate considerando i risultati equivoci come negativi e quelli leggermente positivi come positivi.

Dei 22 campioni (ignorando 7 campioni diluiti discrepanti) con risultati discrepanti, ***AESKULISA***® ha superato il dispositivo omologato in 7 casi basandosi su informazioni addizionali quali EMA, biopsia e risultati ottenuti dagli esami DGP di altre classi di immunoglobina.

10.3 Valutazione clinica

La sensibilità diagnostica del 94,4% e la specificità diagnostica del 97,7% sono state calcolate utilizzando 289 campioni: i summenzionati valori CD e DH, non-DH/CD e i campioni di controllo autoimmuni ignorando i risultati per i campioni sospetti, diluiti e i campioni con deficienza di IgA (consultare la composizione nella tabella).

DGP-Check	**AESKU**	
Gruppo di malattie	**POS (>24)**	**Totale**
Parametri di controllo autoimmuni*	0(0%)	73
CD	77(97,5%)	79
CD IgA Def	15(93,8%)	16
DH	59(90,8%)	65
Controlli (non-DH/CD)	3(5,4%)	56
Totale	**154(53,3%)**	**289**

(*) contiene campioni addizionali unicamente determinati in AESKULISA e non nel dispositivo omologato e i campioni che hanno mostrato elevata positività entro un range misurabile.

DGP-Check	dispos. omologato		
Test	**POS**	**NEG**	**Totale**
POS>24	151	3	154
NEG ≤24	9	126	135
Totale	160	129	289

sensibilità diagnostica*	**95% C.I.**	
94.38% (151/160)	89,66%	97,01%
specificità diagnostica*		
97.67% (126/129)	93,39%	99,21%

*i risultati equivoci sono stati considerati negativi

10.4 Linearità

I sieri selezionati sono stati testati con questo kit e hanno dimostrato di diluirsi in modo lineare con un siero negativo secondo CLSI EP06-A. Tuttavia, a causa della natura eterogenea degli autoanticorpi umani potrebbero esistere campioni che non seguono questa regola.

Composizione		Alta			Media			Bassa		
Riempi campione	Campione neg.	Media (U/ml)	Valore atteso [U/ml]	Recupero [%]	Media (U/ml)	Valore atteso [U/ml]	Recupero [%]	Media (U/ml)	Valore atteso [U/ml]	Recupero [%]
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%

Sulla base di questi dati, il range lineare per ***AESKULISA®* DGP-Check** è compreso tra 1,84 U/ml e 300 U/ml.

10.5 Precisione

Ai fini di determinare la precisione del saggio, è stata valutata la variabilità (intra-saggio, inter-saggio e lotto a lotto) esaminando la sua riproducibilità su cinque campioni di siero selezionati per rappresentare un range al di sopra della curva standard, in 8 ripetizioni in 5 sedute. La variabilità lotto a lotto è stata determinata misurando cinque campioni di siero in 8 ripetizioni in 3 diversi lotti.

Variabilità inter-saggio			Variabilità intra-saggio			Variabilità lotto a lotto		
Campione n.	Media (U/ml)	CV (%)	Campione n.	Media (U/ml)	CV (%)	Campione n.	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

I criteri di accettazione sono ≤15% per i campioni positivi, ≤15% per i campioni equivoci e ≤25% per i campioni negativi

10.6 Calibratura

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

10.7 Range normale

Gli anticorpi DGP-A sono stati registrati in un massimo del 10% e gli anticorpi DGP-P in un massimo di 13,7% della popolazione normale.

133 donatori di sangue casuali sono stati esaminati per constatare la presenza di anticorpi DGP-Check. Di questi, 116 avevano un'età compresa tra i 16 e i 45, 17 erano 46+; il numero di donne e uomini era pressoché uguale. Un campione (0,8%) è risultato positivo, sei (4,5%) equivoci, con il campione dal risultato più elevato pari a 28,4 unità, mentre il resto era negativo. Il valore medio dei campioni era di 8,2 unità con una deviazione standard di 4,4 unità. Il valore medio è di 3,6 deviazioni standard al di sotto del limite di positività di 24 unità.

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 Simboli normativi

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	