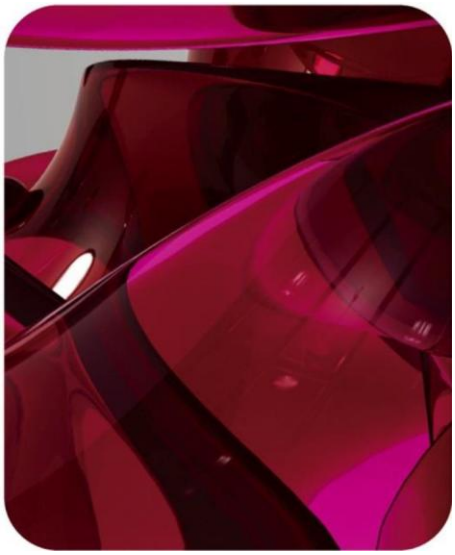
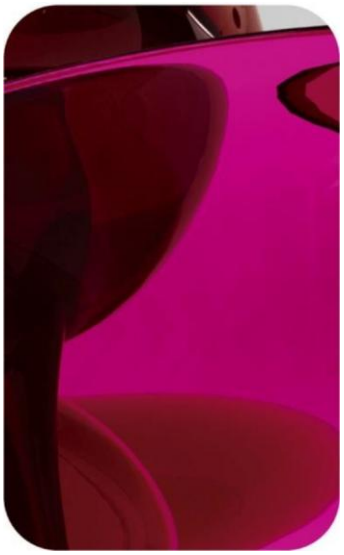
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS


AESKUBLOTS®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MODE D'EMPLOI

AESKUBLOTS® Gastro Pro

Ref 4005

CE

Mode d'emploi

Sommaire

1 Usage prévu 1
2 Application clinique et principe du test 1
3 Composants du kit 2
4 Stockage et durée de conservation 3
5 Indications et mesures de précaution 3
6 Prélèvement des échantillons, préparation et stockage 4
7 Mode opératoire 5
8 Analyse qualitative 8
9 Données techniques 9
10 Caractéristiques 10
11 Éliminatio 16
12 Bibliographie 17
13 Symboles réglementaires 18

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

Le test ***AESKUBLOTS*®** **Gastro Pro** est une méthode immunoenzymatique sur membrane pour la mise en évidence qualitative d'anticorps des sous-classes d'IgA et d'IgG anti-gliadine, anti-tTg neo-epitope, anti-mannane (ASCA), anti-cellule pariétale et anti-facteur intrinsèque dans le sérum. Les antigènes sont déposés sur les membranes de nitrocellulose à des endroits définis de manière à former des lignes.
Le test constitue une aide au diagnostic de la maladie cœliaque, de l'anémie pernicieuse et de la maladie de Crohn.
Le kit de test est uniquement destiné à un usage professionnel dans les laboratoires.

2 Application clinique et principe du test

Chaque section du tractus gastro-intestinal peut être atteint par les maladies gastro-intestinales auto-immunes. Les maladies ne sont souvent diagnostiquées que plusieurs années après la première apparition des symptômes et suivent souvent une évolution grave. Les patients atteints de la maladie cœliaque présentent souvent une déficience en IgA. Afin d'éviter des résultats faussement négatifs, ce test permet de déceler les anticorps IgA et IgG.

Anticorps dirigés contre :

- la gliadine, typiques de la maladie cœliaque. Les anticorps de la sous-classe IgA sont pour l'essentiel spécifiques de la maladie cœliaque. Les anticorps du type IgG apparaissent également chez 40 à 50 % des patients atteints de la maladie de Crohn et 10 à 20 % des patients souffrant de rectocolite hémorragique.
- la tTg « néo-épitope » ou néo-tTg, transglutaminase tissulaire catalysant la réticulation des peptides spécifiques de la gliadine, constitue un marqueur fiable de la maladie cœliaque et de la dermatite herpétiforme (maladie de Duhring-Brocq). En raison de leur similitude structurelle avec des épitopes physiologiques, les anticorps anti-tTg néo-épitope présentent une sensibilité et une spécificité élevées comparativement aux anticorps anti-tTg (sensibilité de 98 à 100 % ; spécificité de 93 à 96 %).
- le mannane (ASCA), qui présentent une spécificité de 97 % pour la maladie de Crohn. Ils jouent un rôle déterminant dans le diagnostic différentiel de la maladie de Crohn et de la rectocolite hémorragique. 75 % des patients atteints de la maladie de Crohn présentent, contrairement aux patients souffrant de rectocolite hémorragique, présentent une augmentation du taux d'anticorps.
- les cellules pariétales de l'estomac, qui peuvent être décelées chez 80 à 90 % des patients atteints d'une anémie pernicieuse à l'aide d'un test d'immunofluorescence indirecte, mais apparaissent également chez 2 à 5 % des sujets sains. Ils se trouvent en outre chez les patients atteints de maladie auto-immunes endocriniennes et de gastrite chronique atrophique de type A.
- le facteur intrinsèque, qui présentent une sensibilité de 50-70 % dans le cas de l'anémie pernicieuse et une spécificité de 100 % dans une population de donneurs de sangs sains. Ces anticorps sont même présents chez les patients atteints de maladies de la thyroïde auto-immunes et de gastrite chronique atrophique de type A.

Principe du test

Les antigènes doivent être déposés en ligne sur la bandelette de membrane de nitrocellulose. La membrane est bloquée de manière à éviter les liaisons non spécifiques. Les bandelettes de membrane sur lesquelles sont déposés les antigènes spécifiques sont incubées dans les boîtes d'incubation avec des échantillons de sérum dilués à 1:101. S'ils sont présents, les anticorps spécifiques du sérum du patient se lient alors à l'antigène situé sur la membrane. Les composants non liés du serum sont retirés en les lavant au cours des étapes de lavage suivantes. Les anticorps dirigés contre l'immunoglobuline humaine, marqués à la peroxydase du raifort (conjugué), sont ensuite ajoutés. Pendant une période d'incubation, ils se lient au complexe antigène-anticorps précédemment formé, l'immunoglobuline non liée est retirée au cours des étapes de lavage suivantes. La mise en évidence des anticorps liés s'effectue à l'aide d'une réaction enzymatique colorée au cours de laquelle le substrat incolore est convertit en précipité (bleu). La réaction est stoppée au moyen de l'eau distillée.

3 Composants du kit

Reconstituer avant utilisation				
Composant du kit	Quantité	Couleur du bouchon	Couleur de la solution	Description / Contenu
Réactif de blocage	3 x pour 10 ml de concentré	blanc	s.o.	Lait écrémé en poudre pour la préparation de 10 ml de tampon d'échantillon
Tampon de lavage 20x	1 x 50 ml	blanc	incolore	concentré 20 fois pour 1 L de tampon Tris, pH 6,9 ± 0,2
Prêt à l'emploi				
Composant du kit	Quantité	Couleur du bouchon	Couleur de la solution	Description / Contenu
Conjugué IgG	1 x 10 ml	bleu	incolore	Anti-immunoglobuline humaine G (IgG) marqué à la peroxydase du raifort
Conjugué IgA	1 x 10 ml	rouge	incolore	Anti-immunoglobuline humaine A (IgA) marqué à la peroxydase du raifort
Substrat	1 x 10 ml	noir	incolore	TMB/ H_2O_2 stabilisé
Bandelettes de test	24 bandelettes	Code couleur noir	s.o.	Antigènes déposés : voir Usage prévu
Pincette, modèle d'interprétation transparent, feuille d'évaluation, étiquette adhésive double face (blanc) pour la fixation des bandelettes	1 de chaque	s.o.	s.o.	s.o.
boîte d'incubation,	3	s.o.	s.o.	s.o.
Etiquettes pour tampon d'échantillon	3	s.o.	s.o.	s.o.
Matériel requis non fourni avec le kit :				
Agitateur-balance, éprouvette graduée de 1 000 ml, pipette ou éprouvette graduée pour volumes de 10 ml, micropipettes (10, 1 000 µl), papier absorbant ou papier filtre. Nos tests ont été développés pour une utilisation avec de l'eau purifiée (purified water) conforme à la définition de la Pharmacopée des Etats-Unis (USP 26 - NF 21) et de la Pharmacopée européenne (Eur. Ph. 4te Ed.).				

4 Stockage et durée de conservation

Conserver les réactifs et les bandelettes test à une température située entre 2 et 8 °C (entre 35,6 et 46,4 °F) dans leur emballage d'origine. Une fois préparés, le tampon de lavage reconstitué ainsi que les bandelettes ouvertes, le conjugué et la TMB sont stables pendant six semaines à une température située entre 2 et 8 °C (entre 35,6 et 46,4 °F). Le réactif bloquant reconstitué est stable pendant 3 semaines à une température comprise entre 2 et 8 °C (35,6 et 46,4 °F). Les réactifs et les bandelettes doivent impérativement être utilisés avant la date de péremption indiquée sur chaque composant. Ne pas utiliser les composants après la date de péremption. Éviter toute exposition intense de la solution de TMB à la lumière.

5 Indications et mesures de précaution

5.1 Risque sanitaire

Ce produit est réservé à un USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO. L'utilisation de ce kit est donc réservée à un personnel averti et spécialement formé aux méthodes de diagnostic in vitro.

Tous les composants du kit sont classés conformément au règlement (CE) n° 1272/2008 [CLP]. Voir le document sur les matériaux et la sécurité (MSDS) pour plus d'informations sur les ingrédients.

Les substances répertoriées dans la Liste des substances extrêmement préoccupantes identifiées candidates en vue d'une autorisation (SVHC) de l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA) ne sont pas des composants intentionnels de ce produit. Par conséquent, ces substances ne doivent pas être contenues dans ce produit dans des proportions ≥ 0,1 %.

Les réactifs doivent être conservés en lieu sûr et tenus hors de portée des enfants.

Plus particulièrement, ce mélange ne contient aucune substance à des concentrations ≥ 0,1 % classée dans la catégorie PBT ou vPvB.

Les échantillons des patients doivent être considérés comme potentiellement infectieux et manipulés conformément aux lois nationales. Les échantillons des patients et les autres matières potentiellement infectieuses doivent être décontaminés à l'issue du test.

5.2 Indications générales

Afin de différencier les tests **AESKUBLOTS®** disponibles, un code couleur se situe au-dessus de la ligne de contrôle de la bandelette:

Code couleur	*AESKUBLOTS®*
rouge	ANA-17 comp
orange	ANA-17 Pro
marron	Liver Pro
violet	Vasculitis Pro
noir	Gastro Pro
vert	Borrelia-G et Borrelia-M

Si des informations produit sont incorrectes, y compris celles des étiquettes, merci de contacter le fabricant ou le fournisseur du kit.

Le réactif de blocage et le tampon de lavage peuvent être échangés entre les lots et les emballages des tests. Tous les autres composants sont spécifiques et ne doivent pas être échangés. Ne pas échanger les composants entre le test de diagnostic pour l'auto-immunité et celui pour la borréliose.

Aucun récipient en polystyrène ne doit être utilisé pour la manipulation du conjugué.

Tous les composants du kit doivent être à température ambiante (20-32°C/68-89,6°F) et bien mélangés. Le protocole prescrit pour le mode opératoire doit être impérativement observé afin d'obtenir des résultats optimaux.

N'exposez jamais séparément les composants du kit à des températures supérieures à 37°C/ 98,6°F.

Toujours pipeter la solution du substrat avec des pointes de pipettes neuves afin d'éviter toute contamination. Protéger la solution du substrat de la lumière. Ne jamais pipeter la solution du conjugué avec des pointes de pipettes contaminées par d'autres réactifs.

L'intensité chromatique des bandes ne correspond pas nécessairement aux titres des anticorps, déterminés à l'aide de méthodes de référence.

Même les échantillons de personnes apparemment saines peuvent présenter des autoanticorps.

En cas de concentration élevée d'immuncomplexes ou de tout autre agrégat d'immunoglobuline dans un échantillon, des résultats positifs faux dus à des liaisons non spécifiques ne sont pas à exclure.

Un diagnostic clinique définitif ne doit pas relever uniquement des résultats du test effectué, mais doit être posé par le médecin en tenant compte de l'ensemble des résultats cliniques et des analyses biologiques. Il est impératif de confirmer le diagnostic avec différentes méthodes.

6 Prélèvement des échantillons, préparation et stockage

Il est recommandé d'utiliser des échantillons frais de sérum. La prise de sang doit être effectuée en conformité avec la situation juridique nationale. Ne pas utiliser d'échantillons de sérum atteints par un ictère, une lipémie, une hémolyse ou contaminés par des bactéries. En cas d'échantillons troubles, centrifuger légèrement les particules (< 1000 x g). Collecter les échantillons de sang dans des tubes propres, secs et vides.

Une fois prélevés, les échantillons de sérum doivent être utilisés dans les 8 h qui suivent ou conservés fermés pendant 48 h à 2-8°C/35,6-46,4°F. SI un stockage plus long est envisagé, les échantillons doivent être congelés à -20°C/-4°F. Des congélations et décongélations à répétition doivent être évitées. Ne pas utiliser d'échantillons de sérum activés par la chaleur (56°C/132,8°F).

7 Mode opératoire

7.1 Préparation

Dilution de réactifs concentrés :

Dissoudre éventuellement les cristaux de sel du concentré de tampon de lavage. Les cristaux peuvent être à nouveau dilués en chauffant légèrement, mais la température doit suffire.

Diluer à 1:20 le tampon de lavage concentré avec de l'eau distillée (50 ml plus 950 ml p.ex.).

Fabrication du tampon d'échantillon : ajouter 10 ml de tampon de lavage à un flacon de réactif de blocage et bien mélanger.

7.2 Etapes

Important

Suivez exactement ce protocole. Assurez-vous que les deux éléments mentionnés dans le protocole sont ajoutés à la barre dans les étapes 2, 6, 9.

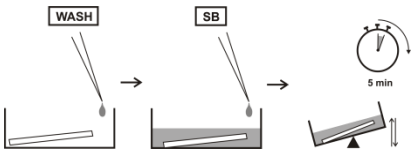
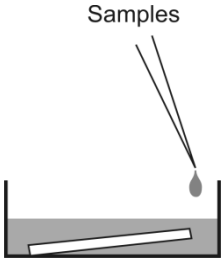
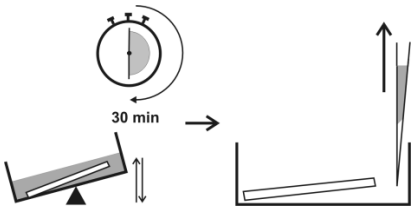
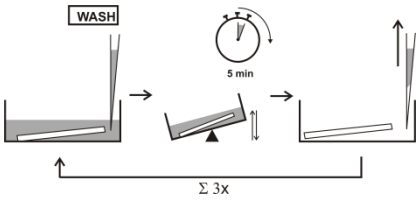
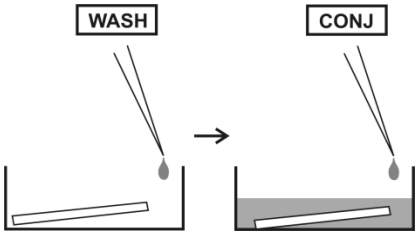
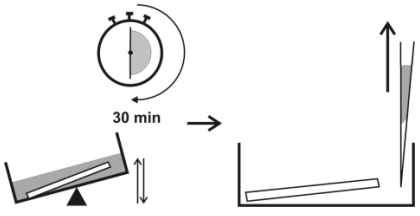
Ne pas laisser sécher les bandelettes de test entre les étapes d'incubation.

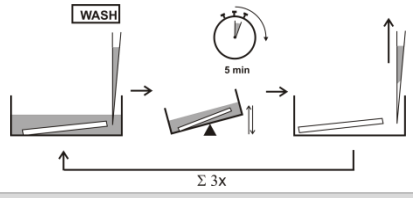
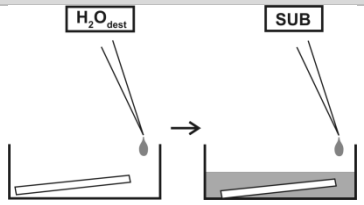
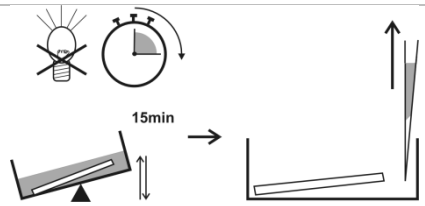
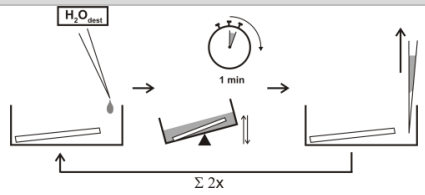
Ne pas toucher les bandelettes de test avec les mains, utiliser une pincette.

Retirer complètement les échantillons de sérum dilués après l'incubation pour éviter qu'ils ne se déplacent.

Agiter en permanence les bandelettes de test au moyen de l'agitateur-balance pendant l'incubation.

Ajouter le tampon d'échantillon, le conjugué et le substrat avec le tampon de lavage d'un côté de la boîte d'incubation. Ne pas laisser couler par-dessus la bandelette.

Etape	*Description*
1.	Assurez-vous que les préparatifs décrits au chapitre 7.1 ont été effectués avant le début du test.
2.	 Placer la bandelette dans le bon sens (ligne de contrôle et code couleur vers le haut) dans la boîte d'incubation. Ne toucher la bandelette qu'avec une pincette. Ajouter 700 µl de tampon de lavage et 300 µl de tampon d'échantillon dans la boîte d'incubation avec la bandelette. Recouvrir complètement la bandelette avec la solution et laisser incuber 5 minutes sous agitation.
ECHANTILLON	
3.	 Pipetez à chaque fois 10 µl d'échantillon de sérum dans la boîte d'incubation avec la bandelette prévue et le tampon d'échantillon.
4.	 Incuber 30 minutes à 20-32°C/68-89,6°F sous agitation. Puis retirer complètement l'échantillon.
5.	 Laver 3 fois pendant 5 minutes avec à chaque fois 1,5 ml de solution de lavage en agitant avec précaution. Retirer la solution de lavage après chaque étape de lavage.
CONJUGUE	
6.	 Ajouter 700 µl de solution de lavage et 300 µl de conjugué dans chaque boîte d'incubation contenant une bandelette.
7.	 Incuber 30 minutes à 20-32°C/68-89,6°F sous agitation. Retirer le conjugué.

8.		Laver 3 fois pendant 5 minutes avec à chaque fois 1,5 ml de solution de lavage en agitant avec précaution. Retirer la solution de lavage après chaque étape de lavage.
SUBSTRAT		
9.		Pipeter 700 µl de dH_2O et 300 µl de substrat dans chaque cavité.
10.		Incuber 15 minutes à 20-32°C/68-89,6°F sous agitation, protéger de toute exposition lumineuse intense. Retirer le substrat.
STOP		
11.		Ajouter 2 ml de dH_2O. Incuber 1 minute sous agitation. Retirer le dH_2O. Répétez l'étape
12.	Retirer la bandelette de la boîte d'incubation et sécher entre deux papiers filtre.	
13.	Analyser les bandelettes incubées dans les 24 heures.	

***AESKUBLOTS*® Gastro Pro** est également destiné à être automatiquement traité et évalué sur le système ***HELIA*® Automated Blot**.

Préparation des réactifs pour le système ***HELIA*® Automated Blot**: Diluer un volume de concentré de lavage (WASH) dans 19 volumes d'eau ultrapure (par ex. 50 ml de concentré de lavage pour 950 ml d'eau ultrapure) pour obtenir un tampon de lavage prêt à l'emploi. Tous les autres réactifs sont prêts à l'emploi lorsqu'ils sont traités à l'aide du système ***HELIA*® Automated Blot**. Pour des instructions détaillées sur les procédures de test effectuées sur le système ***HELIA*® Automated Blot**, consulter la notice d'utilisation du système ***HELIA*® Automated Blot**.

8 Analyse qualitative

Si les valeurs des bandes de contrôle ne remplissent pas les critères de validation, le test est invalide et doit être réexécuté. En cas de résultats douteux, la répétition du test avec un nouvel échantillon est également recommandée.

Les sources d'erreur suivantes doivent être contrôlées : données de conservation des réactifs, conditions de stockage, pipettes, appareils utilisés et conditions d'incubation.

Si les échantillons testés présentent des valeurs inhabituelles ou déviantes ou si les critères de validation ne sont pas remplis pour des motifs ne relevant pas de la responsabilité de l'utilisateur, merci de contacter le fabricant ou le fournisseur du kit.

Les laboratoires d'analyse médicale doivent effectuer des contrôles qualité à l'aide de contrôles qui leur sont propres et/ou de sérums conformes à la réglementation nationale.

8.1 Analyse manuelle

Le test peut être considéré comme valide lorsque

- la bande témoin de fonctionnement apparaît,
- la bande de détection est visible,
- l'intensité chromatique de la bande de détection est inférieure à celle de la bande témoin de fonctionnement.

Fixer la bandelette sèche à la feuille d'évaluation en faisant coïncider la ligne de référence. Poser le modèle d'interprétation sur la bandelette en faisant coïncider la ligne de référence. Interpréter les résultats uniquement à l'aide de la bande de détection située sur la bandelette du test considéré.

Une copie couleur de toutes les bandes pouvant être mises en évidence par le test est adjointe à chaque emballage de test.

L'interprétation s'effectue en comparant l'intensité chromatique de la bande apparue à celle de la bande de détection. Si l'intensité chromatique est comparable à celle de la bande de détection, le résultat du test doit être considéré comme douteux. En cas de coloration intense, le test est positif et en cas de faible coloration, le test est négatif.

Les résultats du test peuvent être notés sur la feuille d'évaluation.

8.2 Évaluation assistée par logiciel

L’analyse des bandelettes peut être effectuée à l’aide du logiciel AESKU.SCAN. Veuillez consulter le mode d’emploi du logiciel AESKU.SCAN.

Les résultats de test peuvent être considérés recevables si :

- Le contrôle fonctionnel est visible
- Le contrôle d’exclusion est visible
- L’intensité de couleur du contrôle d’exclusion est plus faible que celle du contrôle fonctionnel

AESKU.SCAN 2.0 :

Placer les bandelettes sèches sur la fiche de score (imprimable) alignée avec la ligne de référence. Aligner le modèle de référence avec la ligne de référence des bandelettes.

Évaluer les bandelettes conformément au mode d'emploi du logiciel AESKU.SCAN 2.0.

L'analyse qualitative des résultats est effectuée en comparant l'intensité de couleur de chaque antigène avec celle du contrôle d'exclusion.

AESKU.SCAN 3.0 :

Placer les bandelettes sur le plateau d'incubation dans le lecteur.

Évaluer les bandelettes conformément au mode d'emploi du logiciel AESKU.SCAN 3.0.

L'analyse qualitative des résultats est effectuée en comparant l'intensité de couleur de chaque antigène avec celle du contrôle d'exclusion.

Système *HELIA*® Automated Blot :

Les résultats sont analysés automatiquement à l'aide d'un système ***HELIA*® Automated Blot**. Les résultats peuvent être déterminés en valeurs index.

Il est suggéré de procéder à l'interprétation suivante en fonction de l'intensité du signal :

Interprétation des résultats	Symbole	Index	Couleur
Négatif	–	0,0 - <0,8	Incolore
Équivoque	+/-	≥0,8 - <1,15	Bleu
Faiblement positif	+	≥1,15 - <2,5	Jaune
Positif	++	≥2,5 - <4,0	Rouge
Fortement positive	+++	≥ 4,0	Rouge foncé

9 Données techniques

Echantillon:	sérum
Volume d'échantillon:	10 µl de sérum
Temps d'incubation total:	112 minutes à 20-32°C/68-89.6°F
Stockage:	à 2-8°C/35,6-46,4°F dans les flacons d'origine.
Nombre de tests:	24 tests

10 Caractéristiques

10.1 Étude de la plage normale

Les valeurs attendues pour ***AESKUBLOTS*®** **Gastro Pro** ont été analysées avec un panel de 120 sérums de donneurs sains.

Toutes les analyses ont été réalisées de façon entièrement automatisée conformément aux modes d'emploi en vigueur.

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA

***AESKUBLOTS*®** Gastro Pro - REF 4005- plage normale - rapport										
Antigène	**Nombre d'échantillons**	**Échantillons positifs**		**Échantillons équivoques**		**Échantillons négatifs**		**Min**	**Max**	**Moyenne**
		n	**[%]**	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**	**[Indice]**	**[Indice]**	**[Indice]**
Gliadine	120	0	0,00	9	7,50	111	92,50	0,00	1,08	0,27
Neo-tTg	120	1	0,83	0	0,00	119	99,17	0,00	1,30	0,03
ASCA	120	0	0,00	11	9,17	109	90,83	0,00	1,10	0,28
PCA	120	0	0,00	10	8,33	110	91,67	0,00	1,08	0,24
IF	120	0	0,00	0	0,00	120	100,00	0,00	0,70	0,04

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgG

***AESKUBLOTS*®** Gastro Pro - REF 4005- plage normale - rapport										
Antigène	**Nombre d'échantillons**	**Échantillons positifs**		**Échantillons équivoques**		**Échantillons négatifs**		**Min**	**Max**	**Moyenne**
		n	**[%]**	**n**	**[%]**	**n**	**[%]**	**[Indice]**	**[Indice]**	**[Indice]**
Gliadine	120	0	0,00	8	6,67	112	93,33	0,00	1,10	0,21
Neo-tTg	120	1	0,83	0	0,00	120	100,00	0,00	0,21	0,00
ASCA	120	0	0,00	5	4,17	115	95,83	0,00	0,98	0,30
PCA	120	0	0,00	4	3,33	1106	96,67	0,00	1,03	0,14
IF	120	0	0,00	0	0,00	120	100,00	0,00	0,27	0,01

***AESKUBLOTS*® Gastro Pro** IgA a donné un résultat positif pour l'anti-Neo-tTG. Les résultats les plus équivoques ont été obtenus pour l'anti-gliadine dans les deux variantes. La valeur d'indice la plus faible mesurée était de 0,0, la valeur d'indice la plus élevée mesurée était de 1,3 (Neo-tTG) **pour *AESKUBLOTS*® Gastro Pro** IgA.

Le faible nombre d'échantillons positifs que nous avons trouvés avec ***AESKUBLOTS*® Gastro Pro** dans la population saine testée correspond bien aux chiffres rapportés dans la littérature.

Dans le mode d'emploi, nous recommandons également au chapitre 8 : « Interprétation quantitative et qualitative » que chaque laboratoire établisse sa propre fourchette de valeurs normales.

10.2 Précision

Précision inter-essais

Pour déterminer les variances intra-laboratoire / inter-essais, cinq sérums différents (S1-S4) ont été testés 20 fois sur ***AESKUBLOTS*®** **Gastro Pro**. La concordance positive et négative a été calculée à partir de ces valeurs de test (n=20).

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA

Calcul des concordances	
Pourcentage de concordance positive [%]	100,0
Pourcentage de concordance négative [%]	100,0
Pourcentage de concordance globale [%]	100,0

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgG

Calcul des accords	
Pourcentage de concordance positive [%]	100,0
Pourcentage de concordance négative [%]	100,0
Pourcentage de concordance globale [%]	100,0

Précision inter-essais

Pour déterminer les variances inter-essais/journalières, cinq sérums différents (S1-S4) sur l'ensemble de la gamme ont été testés 8 fois par série, pour un total de 5 séries sur 5 jours différents (n=40). Pour le jour 1, les résultats des variances intra-laboratoire / inter-essais sont utilisés (n=20). La concordance positive et négative a été calculée à partir de ces valeurs de test.

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA

Calcul des accords	
Pourcentage de concordance positive [%]	100,0
Pourcentage de concordance négative [%]	100,0
Pourcentage de concordance globale [%]	100,0

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgG

Calcul des accords	
Pourcentage de concordance positive [%]	100,0
Pourcentage de concordance négative [%]	100,0
Pourcentage de concordance globale [%]	100,0

Précision entre lots

Pour déterminer la précision entre lots, cinq sérums différents (S1-S4) ont été testés 8 fois sur 3 lots (n=24). Le lot 1 est tiré de la série 1 des données d'inter-essais. La concordance positive et négative a été calculée pour les valeurs de test des trois lots différents.

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA

Calcul des accords	
Pourcentage de concordance positive [%]	100,0
Pourcentage de concordance négative [%]	100,0
Pourcentage de concordance globale [%]	100,0

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgG

Calcul des accords	
Pourcentage de concordance positive [%]	100,0
Pourcentage de concordance négative [%]	100,0
Pourcentage de concordance globale [%]	100,0

10.3 Sensibilité et spécificité diagnostiques

Une étude clinique lors de laquelle différents échantillons de sérum de patients atteints de maladie cœliaque, de dermatite herpétiforme, de maladie de Crohn, de colite ulcéreuse, de LED, de PR, de diabète de type 1 et de témoins sains ont été analysés avec ***AESKUBLOTS***® **Gastro Pro**. En outre, ces échantillons ont été mesurés à l'aide d'un Western blot concurrent. Une cohorte d'échantillons pédiatriques avec un diagnostic clair et des antécédents médicaux de 87 échantillons a également été incluse.

Toutes les analyses ont été réalisées conformément aux modes d'emploi en vigueur. Les résultats ont ensuite été comparés pour déterminer la sensibilité et la spécificité diagnostiques de l'analyse.

Anti-gliadine

La gliadine est typique de la maladie cœliaque. Le type IgA est essentiellement spécifique de la maladie cœliaque. Les anticorps de type IgG sont présents chez 40 à 50 % des patients atteints de la maladie de Crohn et chez 10 à 20 % des patients atteints de colite ulcéreuse.

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA et *AESKUBLOTS*® Gastro Pro IgG

Des échantillons de cœliaques ont été analysés, mais aucune sensibilité à la gliadine ne peut être calculée car le kit de référence ne contient pas de gliadine pour les variantes IgA et IgG. La prévalence des auto-anticorps spécifiques à la maladie cœliaque a été étudiée chez des patients atteints de LED, de PR et de diabète de type 1.

Anticorps anti-gliadine : analyse de témoins sains

	n (65)	*AESKUBLOTS*® Gastro Pro IgA anti-gliadine positif	*AESKUBLOTS*® Gastro Pro IgG anti-gliadine positif
SLE	28	7,1 %	10,7 %
RA	11	0,0 %	0,0 %
Diabète de type 1	26	0,0 %	34,6 %

Anticorps anti-gliadine: analyse de témoins sains	*AESKUBLOTS*® Gastro Pro IgA		
	positif	equivoque	negatif
	0	9	111

Anticorps anti-gliadine: analyse de témoins sains	*AESKUBLOTS*® Gastro Pro IgG		
	positif	equivoque	negatif
	0	8	112

Dans l'analyse de 120 échantillons de patients sains négatifs aux anticorps, aucun échantillon positif n'a été mesuré, et seuls 9 et 8 échantillons, respectivement, ont donné des résultats équivoques. La littérature nous apprend que les anticorps anti-gliadine peuvent également apparaître chez des patients sains ou atteints d'autres maladies.

Anti-tTG neo

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA

Neo tTG 2x2	Diagnostiquer	
	les maladies cœliaques	contrôles
positif	28	1
negatif	18	40

Performance diagnostique tTG-neo IgA		CI
Sensibilité	60,9	45,4 % to 74,9 %
Spécificité	97,6	87,1 % to 99,9 %
AUC	0,792	0,692 to 0,872

Dans une cohorte d'échantillons pédiatriques de 87 échantillons comprenant la maladie cœliaque, la maladie de Crohn, la colite ulcéreuse et des donneurs de sang sains, une sensibilité diagnostique de 60,9 % et une spécificité diagnostique de 97,6 % ont pu être calculées pour le tTG-neo IgA.

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgG

Neo tTG 2x2	Diagnostiquer	
	les maladies cœliaques	les maladies cœliaques
positif	38	3
negatif	10	33

Performance diagnostique tTG-neo IgA		CI
Sensibilité	79,2	65,1 % to 89,5 %
Spécificité	91,7	77,5 % to 98,2 %
AUC	0,854	0,760 to 0,922

Dans une cohorte d'échantillons pédiatriques de 84 échantillons comprenant la maladie cœliaque, la maladie de Crohn, la colite ulcéreuse et des donneurs de sang sains, une sensibilité diagnostique de 79,2 % et une spécificité diagnostique de 91,7 % ont pu être calculées pour les tTG-neo IgG.

Anti-ASCA

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA

L'analyse de 24 sérums de patients atteints de la maladie de Crohn (anti-ASCA positif n = 15) a montré une sensibilité de 100 % pour la détection d'auto-anticorps contre l'ASCA par rapport à la méthode de référence Western blot d'un concurrent. Par rapport à l'analyse concurrente, une spécificité de 100 % a pu être mesurée.

Anticorps ASCA : analyse des anticorps anti-ASCA chez les patients atteints de la maladie de Crohn		essai concurrent		
		positif	equivoque	negatif
AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA	positif	15	1	0
	equivoque	2	1	0
	negatif	0	1	4

Anticorps ASCA : analyse des anticorps anti-ASCA chez les patients atteints de la maladie de Crohn

	n (124)	*AESKUBLOTS*® Gastro Pro IgA anti-ASCA positif
Maladie de Crohn	24	70,0 %
SLE	28	0,0 %
RA	11	0,0 %
Diabète de type 1	26	25,0 %
Témoins sains	35	0,0 %

AESKUBLOTS® Gastro Pro IgG

L'analyse de 20 sérums de patients atteints de la maladie de Crohn (anti-ASCA positif n = 9) a montré une sensibilité de 100 % pour la détection d'auto-anticorps contre l'ASCA par rapport à la méthode de référence Western blot d'un concurrent. Par rapport à l'analyse concurrente, une spécificité de 100 % a pu être mesurée.

Anticorps ASCA : analyse des anticorps anti-ASCA chez les patients atteints de la maladie de Crohn

Anticorps ASCA : analyse des anticorps anti-ASCA chez les patients atteints de la maladie de Crohn		essai concurrent		
		positif	equivoque	negatif
AESKUBLOTS® Gastro Pro IgA	positif	9	1	0
	equivoque	0	3	3
	negatif	0	1	3

La prévalence des auto-anticorps ASCA a été étudiée chez des patients atteints de la maladie de Crohn, du LED, de la PR, du diabète de type 1 et chez des témoins sains.

	n (136)	*AESKUBLOTS*® Gastro Pro IgG anti-ASCA positif
Maladie de Crohn	20	50,0 %
SLE	28	7,1 %
RA	11	9,1 %
Diabète de type 1	18	5,6 %
Témoins sains	59	0,0 %

Anti-PCA

Les cellules pariétales peuvent être détectées par un test d'immunofluorescence chez 80 à 90 % des patients atteints d'anémie pernicieuse, mais peuvent également être présentes chez 2 à 5 % des individus en bonne santé. Elles surviennent également chez les patients atteints de maladies endocriniennes auto-immunes et de gastrite chronique atrophique de type A.

Dans le panel d'échantillons utilisé, il n'y avait pas d'échantillons d'anémie pernicieuse, dans lesquels les anticorps contre le PCA sont généralement présents. Par conséquent, aucune sensibilité ne peut être donnée ici pour ***AESKUBLOTS*® Gastro** IgA et IgG. La prévalence des anti-PCA a été étudiée dans le sérum de patients atteints de LED, de PR, de diabète de type 1 et de témoins sains.

	n (185)	*AESKUBLOTS*® Gastro Pro IgA anti-PCA positif	*AESKUBLOTS*® Gastro Pro IgG anti-PCA positif
SLE	28	10,7 %	10,7 %
RA	11	9,1 %	18,2 %
Diabète de type 1	26	26,9 %	23,0 %
Témoins sains	120	0,0 %	0,0 %

Facteur anti-intrinsèque

Le facteur intrinsèque montre pour l'anémie pernicieuse une sensibilité de 50-70 % avec une spécificité de 100 % dans une population de donneurs de sang sains. Ces anticorps sont également détectés chez les patients atteints de maladies thyroïdiennes auto-immunes et de gastrite atrophique chronique de type A.
Dans le panel d'échantillons utilisé, il n'y avait pas d'échantillons d'anémie pernicieuse, dans lesquels les anticorps contre le facteur intrinsèque sont généralement présents. Par conséquent, aucune sensibilité ne peut être donnée ici pour ***AESKUBLOTS*® Gastro Pro** IgA et IgG. La prévalence des anti-PCA a été étudiée dans le sérum de patients atteints de LED, de PR, de diabète de type 1 et de témoins sains.

	n (185)	*AESKUBLOTS*® Gastro Pro IgA anti-IF positif	*AESKUBLOTS*® Gastro Pro IgG anti-IF positif
SLE	28	0,0 %	3,5 %
RA	11	0,0 %	0,0 %
Diabète de type 1	26	0,0 %	0,0 %
Témoins sains	120	0,0 %	0,0 %

Les sensibilités et spécificités ainsi que les accords avec les concurrents montrent de très bons résultats. Dans certains cas, la sensibilité n'a pas pu être calculée pour des paramètres individuels en raison du manque d'échantillons positifs dans les cohortes. D'autres échantillons seront étudiés à l'avenir.

10.4 Sensibilité et Spécificité relative

Pour déterminer la conformité positive (sensibilité relative), 30 sérums de patients avec des anticorps positifs à IIF ou Elisa ont été analysé avec ***AESKUBLOTS*® Gastro Pro**. La conformité négative (spécificité relative) a été déterminée en utilisant 100 échantillons de sérum collectés chez des donneurs de sang apparemment sains.

Antigène	Conformité positive (sensibilité relative)	Conformité négative (spécificité relative)
anti-gliadine	100 %	100 %
anti-neo-tTg	100 %	100 %
anti-mannane (ASCA),	100 %	100 %
anti-cellule pariétale	100 %	100 %
anti-facteur intrinsèque	100 %	100 %

11 Éliminatio

Pour la décontamination et l'élimination, respecter les réglementations locales et nationales en vigueur!

12 Bibliographie

Carmel R (1992). Reassessment of the relative prevalences of antibodies to gastric parietal cell and to intrinsic factor in patients with pernicious anaemia: influence of patient age and race. Clin Exp Immunol. 89(1):74-77.

Lerner A (2014). Serological Diagnosis of Celiac Disease –Moving Beyond the Tip of the Iceberg. International Journal of Celiac Disease. 2(2): 64-66.

Catassi C, Rätsch I-M, Fabiani E, Rossini M, Coppa GV, Giorgi PL, Bordicchia F, Candela F (1994). Celiac disease in the year 2000: exploring the iceberg. The Lancet. 343:200**–**203.

Holtmeier W, Caspary WF (1998). Antikörperdiagnostik bei Sprue/Zöliakie. Z. Gastroenterol. 36: 587**–**597.

Mäki M, Collin P (1997). Coeliac disease. Lancet. 349: 1755**–**1759.

Oh R, Brown DL (2003). Vitamin B12 deficiency. Am Fam Physician. 67: 979**–**986.

Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C (2002). Structural basis for gluten intolerance in Celiac Sprue. Science 297:2275**–**2279.

Toh Ban-Hock, Alderuccio, F. (2004). Pernicious anaemia. Autoimmunity. 37: 357**–**361.

Toh Ban-Hock, van Driel Ian R. (1997). Pernicious anaemia. NEJM. 337:1441**–**144

13 Symboles réglementaires

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 24	¨ 24 determinazioni	¨ 24 tests
	¨ 24 tests	¨ 24 pruebas
	¨ 24 Bestimmungen	¨ 24 προσδιορισμοί
	¨ 24 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	
STRIP	¨ Strip di nitrocelluslosa rivestita	¨ Coated nitrocellulose strip
	¨ Strip de nitrocellulose couché	¨ Tira de nitrocelulosa recubierta
	¨ Nitrozellulosemembran-Streifen mit aufgebrachten Antigenen	¨ Επίστρωση λωρίδα νιτροκυτταρίνης
	¨ Tira de nitrocelulose revestido	
WASH 20x	¨ Tampone di lavaggio	¨ Wash buffer
	¨ Tampon de Lavage	¨ Solución de lavado
	¨ Waschpuffer	¨ Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	¨ Solucão de lavagem	
BLOCK-REAG	¨ Reagente bloccante	¨ Blocking Reagent
	¨ réactif de blocage	¨ Reactivo bloqueante
	¨ Blockier-Reagenz	¨ Αντιδραστήριο αποκλεισμού
	¨ Bloqueio de reagente	
RCNS 10ml	¨ Ricostituire con 10 mL	¨ Reconstitute with 10 mL
	¨ reconstituer avec 10 mL	¨ reconstituir con 10 mL
	¨ rekonstituiren mit 10 mL	¨ Ανασύσταση με 10 mL
	¨ reconstituir com 10 mL	
SB	¨ Tampone campione	¨ Sample buffer
	¨ Tampon Echantillons	¨ Tampón Muestras
	¨ Probenpuffer	¨ Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	¨ Diluente de amostra	
CONJ	¨ Coniugato	¨ Conjugate
	¨ Conjugé	¨ Conjugado
	¨ Konjugat	¨ Σύζευγμα
	¨ Conjugado	
SUB	¨ Tampone substrato	¨ Substrate buffer
	¨ Substrat	¨ Tampón sustrato
	¨ Substratpuffer	¨ Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	¨ Substrato	