



IVD

ENCART DU PRODUIT

REF 37795 Coeliaque tTG IgA ELISA 96 Déterminations

REF 37796 Coeliaque tTG IgG ELISA 96 Déterminations

UTILISATION PREVUE

Test ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) pour la détection qualitative et semi-quantitative des anticorps anti-transglutaminase de tissu humain IgA ou IgG dans le sérum humain pour aider au diagnostic de l'entéropathie sensible au gluten/maladie coeliaque (CD) en association avec d'autres informations de laboratoire et cliniques.

GENERALITES

La maladie coeliaque (CD) est un désordre gastro-intestinal auto-immunitaire qui peut se produire chez des individus génétiquement susceptibles suite à l'ingestion d'aliments contenant du gluten tels que le blé, l'orge et le seigle. Les symptômes classiques de la CD sont la diarrhée, perte de poids et malnutrition. Seulement un petit pourcentage des patients présentant la CD développe des symptômes classiques. Par conséquent, le spectre clinique de la CD s'est fortement élargi par rapport à avant pour inclure les patients qui ne présentent pas les symptômes classiques. Il n'est pas inhabituel que les symptômes initiaux ne soient pas gastro-intestinaux ou en cas de symptômes gastro-intestinaux, d'être légers ou intermittents. Le besoin d'examiner une gamme plus large de présentation clinique a entraîné un nombre plus grand d'individus diagnostiqués avec la CD plus tard dans la vie que jamais auparavant. Les adultes peuvent présenter une déficience en fer, une anémie macrocytique et une hypocalcémie.

Les études ont révélé que la prédominance de la CD peut être fortement variable. Sion emploie uniquement des critères cliniques pour déterminer la prévalence, l'incidence de la CD est beaucoup plus limitée par rapport à l'incidence établie par des méthodes sérologiques^{1,2}. En utilisant les méthodes sérologiques, des études récentes ont indiqué que l'incidence de la CD dans la population générale se trouve entre un sur 100 et un sur 500.

L'absence de diagnostic précoce de CD peut entraîner des complications à long terme chez le patient telles que l'atrophie splénique et le lymphome intestinal^{3,4}. Un régime sans gluten (GFD) normalise la muqueuse et aide à réduire la malignité potentielle.

L'examen histologique de la biopsie du petit intestin demeure le meilleur moyen pour diagnostiquer la CD, mais il a également ses propres limites. Par exemple, certains patients ayant une forme latente ou même active de CD peuvent avoir une histopathologie normale⁵.

Les nouveaux critères de l'European Society Pediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGHAN) incluent uniquement une biopsie simple avec une nette diminution des symptômes cliniques lors d'une alimentation sans gluten⁶. Une sérologie positive au moment du diagnostic lors de régime incluant le gluten contribue au diagnostic. Les divers tests sérologiques utilisés chez les patients présentant un risque de CD, comprennent également les anticorps anti-gliadine (AGA), les anticorps anti-endomysiaux (EMA) et les anticorps anti-transglutaminase tissulaire (tTG). Les anticorps anti-gliadine et tTg sont détectés par ELISA, tandis que les EMA sont détectés par immunofluorescence indirecte. Les EMA sont des indicateurs très spécifiques de la CD. Cependant, le test EMA est une méthode immunohistochimique qui nécessite de l'expérience pour la lecture des réactions d'immunofluorescence⁷.

Depuis l'identification du tTG comme antigène endomysial, des méthodes d'ELISA ont été décrites pour détecter des anticorps dans les sérums des patients présentant la CD. L'avantage du test d'anticorps anti-tTG est qu'il est automatisable et moins subjectif que l'EMA. Pour cette raison, beaucoup de laboratoires ont choisi d'employer la méthode d'anticorps tTG comme méthode de détection.

Zenit Celiac tTG est un test immunologique unique utilisant une chimie spéciale pour détecter les anticorps anti-tTG avec un grand degré de spécificité et de sensibilité et minimise les détections d'anticorps non spécifiques dans d'autres contrôles de la maladie comme cela a été rapporté dans d'autres tests immunologiques tTG.⁸⁻¹¹

PRINCIPES DU TEST

Le test est réalisé comme un test immunologique en phase solide. Les micro-puits sont recouverts d'antigène recombinant htTG suivi par une procédure de blocage pour réduire les liaisons non-spécifiques durant le déroulement du test. Les contrôles, les étalons et les sérums de patients dilués sont ajoutés dans différents puits, autorisant chaque anticorps tTG présent à se lier à l'antigène en place. Les molécules non liées aux antigènes sont éliminées par lavage des micro-puits. Un conjugué enzymatique anti- IgG ou IgA humaine est alors ajouté dans chaque puits pour révéler les anticorps du patient. Le conjugué non fixé est éliminé par lavage. L'enzyme spécifique au substrat (TMB) est ensuite ajoutée aux puits et la présence d'anticorps est détectée par un changement de couleur lors de la conversion du substrat TMB en un produit de réaction coloré. La réaction est arrêtée et l'intensité du changement de couleur, qui est proportionnel à la concentration de l'anticorps, sera déterminée par lecture au spectrophotomètre à 405 nm. Les résultats sont exprimés en unités ELISA par millilitres (EU/ml) et reportés comme positifs ou négatifs.

REACTIFS

Conservation et préparation

Conservé tous les réactifs du coffret entre 2 et 8°C. **Ne pas congeler.**

Ne pas employer le réactif s'il est trouble ou si un précipité s'est formé. Tous les réactifs doivent être portés à la température ambiante (20-25°C) avant de les utiliser.

Reconstituer le tampon de lavage en y ajoutant de l'eau distillée ou déionisée pour un volume de 1 L. Conservé entre 2 et 8°C, le tampon de lavage est stable jusqu'à la date limite d'utilisation du kit. Les micro-puits ne peuvent être utilisés qu'une seule fois.

Précautions

Le matériel d'origine humaine utilisé dans la préparation des réactifs a été testé en respectant les recommandations de la FDA et résulte non réactif aux antigènes HBsAg, HCV, HIV-1 et 2 et HTLV-I. Du fait qu'aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie absolue de l'absence d'agents infectieux, considérer les réactifs ainsi que tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux et les manipuler avec les précautions d'usage¹⁴.

Les instructions doivent être suivies exactement comme elles apparaissent dans cette notice de kit pour assurer des résultats valides. Ne pas interchanger les composants du kit avec ceux provenant d'autres sources. Suivre les bonnes pratiques de laboratoire pour minimiser la contamination microbienne et croisée lors de la manipulation. Ne pas utiliser les composants du kit après la date de péremption figurant sur les étiquettes.

Matériel fourni

Zenit Celiac tTG IgA ELISA REF 37795






Zenit Celiac tTG IgG ELISA REF 37796

Les kits contiennent les réactifs suffisants pour effectuer 96 déterminations.

12 x 8	MICROPLATE CTG	Microlamelle avec micro-puits individuels. Recouverts de recombinant humain tTG. Prêt à l'emploi.
1 x 1.75 ml	CONTROL + CtTG-A	Contrôle Positif prêt à l'emploi (<i>couvercle rouge</i>) pour REF 37795. Contient sérum humain positif pour anti-tTG IgA. La gamme de valeurs attendues en EU/ml se trouve sur l'étiquette du flacon.
1 x 1.75 ml	CONTROL + CtTG-G	Contrôle Positif prêt à l'emploi (<i>couvercle rouge</i>) pour REF 37796. Contient sérum humain positif pour anti-tTG IgG. La gamme de valeurs attendues en EU/ml se trouve sur l'étiquette du flacon.

1 x 1.75 ml	CONTROL-	Contrôle négatif (<i>couvercle blanc</i>), prêt à l'emploi. Contient sérum humain.
5 x 1.75 ml	CALIBRATOR A CiTG-A CALIBRATOR B CiTG-A CALIBRATOR C CiTG-A CALIBRATOR D CiTG-A CALIBRATOR E CiTG-A	Set de 5 Etalons prêt à l'emploi pour REF 37795. Etalon A (<i>couvercle vert</i>) 160 EU/ml, Etalon B (<i>couvercle violet</i>) 80 EU/ml, Etalon C (<i>couvercle bleu</i>) 40 EU/ml, Etalon D (<i>couvercle jaune</i>) 20 EU/ml, et Etalon E (<i>couvercle orange</i>) 1 EU/ml. Dérivé de sérum humain contenant des anticorps tTG IgA. Les concentrations en EU/ml se trouvent sur les étiquettes.
5 x 1.75 ml	CALIBRATOR A CiTG-G CALIBRATOR B CiTG-G CALIBRATOR C CiTG-G CALIBRATOR D CiTG-G CALIBRATOR E CiTG-G	Set de 5 Etalons prêt à l'emploi pour REF 37796. Etalon A (<i>couvercle vert</i>) 320 EU/ml, Etalon B (<i>couvercle violet</i>) 160 EU/ml, Etalon C (<i>couvercle bleu</i>) 80 EU/ml, Etalon D (<i>couvercle jaune</i>) 20 EU/ml, et Etalon E (<i>couvercle orange</i>) 1 EU/ml. Dérivé de sérum humain contenant des anticorps tTG IgG. Les concentrations en EU/ml se trouvent sur les étiquettes.
1 x 15 ml	IgA-CONJ HRP	Conjugué HRP de chèvre anti-IgA humaine pour REF 37795. Prêt à l'emploi.
1 x 15 ml	IgG-CONJ HRP	Conjugué HRP de chèvre anti-IgG humaine pour REF 37796. Prêt à l'emploi.
1 x 60 ml	DIL	Diluant sérum. Prêt à l'emploi. Code couleur pourpre.
1 x 15 ml	SUBSTRATE TMB	Substrat enzyme TMB. Prêt à l'emploi. Protéger de la lumière.
1 x 15 ml	STOP	Solution d'Arrêt. Prêt à l'emploi.
2 x	BUF WASH	Tampon de lavage en poudre. Reconstituer pour 1 litre.

Symboles utilisés sur les étiquettes

LOT	Numéro de lot
REF	Numéro catalogue
IVD	Pour diagnostic <i>in vitro</i>
	A utiliser avant
	Température de conservation
	Lire les instructions avant l'utilisation
	Nombre de tests
	Fabricant

Matériel nécessaire mais non fourni

- Eau distillée ou déionisée
- Bouteille pour le tampon de lavage

- Pipettes capables de délivrer de 5 à 1000 µl
- Bouts de pipette jetables
- Petits tubes de 12 X 75 mm et porte-tubes
- Timer
- Papier absorbant

Lecteur de microlamelles pouvant lire les valeurs d'absorbance à 450 nm. Si la longueur d'onde double est disponible, le filtre de référence sera de 600-650 nm.

Bac pour le lavage automatique capable de dispenser 200 µl

PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Utiliser uniquement du sérum pour réaliser ces tests. Il est recommandé de ne pas utiliser de sérums fortement hémolysés, lipémiques ou sujets à une contamination bactérienne car cela peut provoquer des interférences et modifier les performances du test. Conserver les sérums entre 2 et 8°C pendant maximum une semaine. Pour une conservation plus longue, les sérums doivent être congelés. Eviter les congélations/décongélations successives des sérums. Il est recommandé que les spécimens congelés soient testés dans l'année.

METHODE

Préparation du test

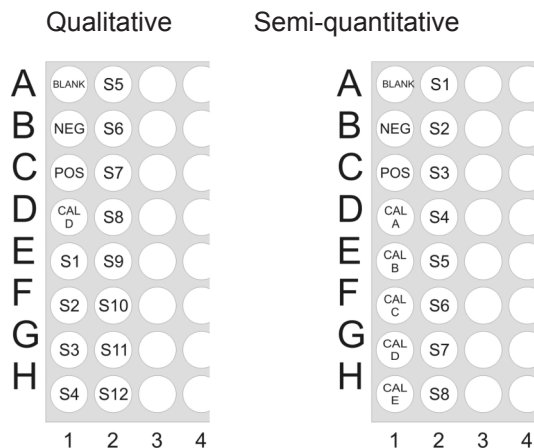
- Lire ces instructions attentivement avant de commencer l'analyse.
- Préparer toutes les dilutions des échantillons patients avant de commencer le test.
- Porter tous les réactifs et échantillons à la température ambiante avant de commencer la procédure. Il est conseillé de laisser les réactifs hors de la boîte pendant 30 minutes avant de les utiliser. Replacer les produits non utilisés au réfrigérateur juste après l'utilisation.
- Prélever le nombre nécessaire de microlamelles et refermer soigneusement le sachet pour éviter la condensation dans les puits non utilisés. Replacer immédiatement le récipient au réfrigérateur.
- **Une bonne technique de lavage est essentielle.** Si l'opération est réalisée manuellement, diriger un jet puissant de vapeur de tampon de lavage à l'aide d'une large bouteille sur toute la superficie de la microlamelle. **Il est recommandé d'utiliser un bac de lavage des microlamelles automatique.**
- Utiliser une pipette multicanaux capable de remplir 8 ou 12 puits simultanément. Ceci rend le processus plus rapide et fournit un temps d'incubation plus uniforme.
- Pour toutes les étapes, la synchronisation est importante. Les périodes d'incubation commencent après la distribution des réactifs.
- L'ajout de tous les échantillons et réactifs doit être réalisé à la même cadence et selon la même séquence.

Exécution du test

Etape 1 Porter tous les réactifs et échantillons à température ambiante.

Etape 2 Indiquer sur une feuille du protocole la position des échantillons sur la microlamelle. Il est de bonne pratique de vérifier les échantillons en double.

Etape 3 **Détermination qualitative** : employer uniquement l'étalon D (*couvercle jaune*).
ou
Détermination semi-quantitative : employer les étalons A à E comme montré dans l'exemple ci-dessous.



- Etape 4** Préparer une dilution de **1:101** de l'échantillon patient en mélangeant **5 µl** de l'échantillon patient à **500 µl** de diluant pour échantillons.
- Etape 5** Prélever les microlamelles nécessaires du sachet et replacer les bandelettes non utilisées dans le sachet fermé au réfrigérateur. Placer soigneusement les microlamelles dans le porte-lamelles fourni.
- Etape 6** Pipeter **100 µl** des étalons prêts à l'emploi, des échantillons de patients dilués (**1 :101**), des contrôles négatif et positif dans les puits indiqués sur la feuille de protocole.
Note : Inclure un puits avec **100 µl** de diluant pour échantillons comme blanc de réactif. La lecture ELISA de ce blanc sera zéro.
- Etape 7** Laisser incuber pendant **30 minutes** (+- 5 minutes) à température ambiante.
- Etape 8** Laver **4 x** avec le tampon de lavage: aspirer soigneusement le contenu de chaque puits. Ajouter le tampon reconstitué dans tous les puits et aspirer ensuite complètement. Répéter cette opération trois fois supplémentaires pour un total de quatre lavages. Après le dernier lavage, retourner la plaque et la tapoter sur du papier absorbant pour enlever tout liquide de lavage résiduel. En cas d'utilisation de bacs de lavage automatiques, programmer l'appareil comme indiqué sur la notice d'utilisation.
- Etape 9** Pipeter **100 µl** de conjugué dans chaque puits.
- Etape 10** Incuber pendant **30 minutes** (+- 5 min.) à température ambiante.
- Etape 11** Lavage: Répéter la procédure décrite à l'étape 8.
- Etape 12** Pipeter **100 µl** de substrat enzymatique dans chaque puits dans le même ordre et timing que le conjugué.
- Etape 13** Incuber **30 minutes** (+- 5 min.) à température ambiante.
- Etape 14** Pipeter **100 µl** de solution d'arrêt dans chaque puits. Maintenir la même séquence et le même timing lors de l'addition de la solution d'arrêt que ceux utilisés lors de la distribution du substrat enzymatique. Lire les valeurs d'absorbance dans les **30 minutes** qui suivent l'arrêt de la réaction.
- Etape 15** Lire l'absorption de chaque puits à **450 nm** en utilisant un lecteur simple ou à longueur d'onde double 450/630 nm en prenant le blanc de réactif comme zéro d'absorbance.

Contrôle qualité

Les étalons, les contrôles positifs et négatifs et un blanc doivent être présents dans chaque série de test pour garantir l'intégrité et la précision de ce dernier. La lecture de densité optique du blanc doit être inférieure à 0.3. L'étalon A doit avoir une lecture de densité optique supérieure à 1.0, sinon le test doit être répété. Le contrôle négatif doit être inférieur à 10 EU/ml. Si le test est réalisé en double, prendre la moyenne des deux lectures pour déterminer les concentrations en EU/ml. Lors des déterminations qualitatives, la densité optique de l'étalon D doit

être plus grande que celle du contrôle négatif et plus petite que celle du contrôle positif. Pour les déterminations semi-quantitatives, le contrôle positif doit donner des valeurs dans les fourchettes figurant sur le flacon.

RESULTATS

Calcul

Les concentrations des échantillons patients peuvent être déterminées par l'une ou l'autre de ces deux méthodes :

1. DETERMINATION QUALITATIVE

Abs. Echantillon

----- X EU/ml étalon D = EU/ml Echantillon

Abs. Etalon D

Il est recommandé que les résultats qualitatifs soient reportés comme « positif » ou « négatif ». Des résultats d'échantillon plus grands ou égaux à l'Etalon D sont considérés positifs.

2. DETERMINATION SEMI-QUANTITATIVE

Tracer l'absorbance des étalons A à E par rapport à leur concentration respective sur un graphique linéaire. Tracer la concentration en EU / ml sur l'axe des X et l'absorbance sur l'axe Y et dessiner la courbe la plus proche. Déterminer les concentrations des échantillons patients provenant de la courbe par leurs valeurs correspondantes d'absorbance. En alternative, une courbe à quatre paramètres peut être utilisée pour tracer la courbe standard.

Il est recommandé que les résultats quantitatifs soient reportés comme « positif », « négatif » ou « indéterminé » avec des unités EU/ml. Les résultats indéterminés/limites doivent être testés à nouveau et évalués en tenant compte d'autres méthodes de laboratoire, telles que les tests de détection des anticorps EMA et/ou tTG.

Etalons

Les étalons sont fournis pour une détermination semi-quantitative et doivent être employés lors de chaque test. Les échantillons patients contenant les niveaux les plus élevés d'anticorps peuvent donner des valeurs d'absorbance plus grandes que celles de l'Etalon A. Pour la détermination des valeurs semi-quantitatives précises de tels échantillons, il faut les diluer et les tester à nouveau jusqu'à ce que les résultats puissent être lus sur la courbe d'étalonnage. Pour la détermination en EU / ml, multiplier les unités obtenues par le facteur de dilution.

Interprétation

Ces valeurs d'interprétation ont été déterminées en testant 114 échantillons de sang de donneurs adultes et des échantillons de contrôle sans maladie coeliaque. La moyenne des sujets normaux plus 2 écart-types a été établie comme la limite de test et on a assigné une valeur arbitraire de 20 EU/ml. A. Menarini Diagnostics suggère l'utilisation de la gamme de référence ci-dessous. Chaque laboratoire doit déterminer ses propres valeurs normales.

valeur Ab anti-tTG	Interprétation
<20 EU/ml	Négatif
20-25 EU/ml	Indéterminé (Limite)
>25 EU/ml	Positif

LIMITES D'UTILISATION

Utiliser uniquement du sérum pour réaliser ces tests. Il est recommandé de ne pas utiliser de sérums fortement hémolysés, lipémiques ou sujets à une contamination bactérienne car cela peut provoquer des interférences et modifier les performances du test. Conserver les sérums entre 2 et 8°C pendant maximum une semaine. Pour une conservation plus longue, les sérums doivent être congelés. Eviter les congélations/décongélations successives des sérums.

Les résultats obtenus servent seulement d'aide dans le diagnostic et doivent être considérés en association avec d'autres informations de laboratoire ou cliniques.

VALEURS ATTENDUES

Les valeurs prévues dans une population normale sont négatives. Cependant, l'incidence de la CD dans la population normale est d'environ 1%, certains individus apparemment en bonne santé, asymptomatiques, et testés positifs pour les anticorps anti-tTG sont aussi testés pour les autres anticorps tels que EMA et AGA. De plus, chez ces individus, des études endoscopiques et histochimiques sont également conseillées pour confirmer la CD, selon les recommandations de l'ESPGAN. L'incidence et les niveaux des anticorps anti-tTG dépendent du type de régime. Les niveaux de ces anticorps diminuent et peuvent même devenir négatifs chez les patients présentant la CD et suivant un régime sans gluten. De même, les niveaux de ces anticorps augmenteront ou deviendront positifs quand les patients présentant la CD qui suivaient un régime sans gluten ingèrent un aliment en contenant¹³⁻¹⁵. Les patients qui ont une CD mais qui sont déficients à la IgA seront positifs pour les anticorps IgG au tTG. Dans de tels cas, des études peuvent être réalisées pour confirmer que le patient est IgA déficient.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

L'utilité du test Zenit Coeliaque tTG ELISA a été déterminée en testant des échantillons de sérum positif à l'EMA bien caractérisés provenant de sujets suspectés de CD avec des contrôles de maladie et des sérums humains « normaux ». Ces échantillons ont aussi été testés avec des kits de test ELISA et d'immunofluorescence disponibles dans le commerce. Ces résultats sont résumés ci-dessous.

A. Zenit Celiac tTG ELISA contre tests immunologiques tTG :

		Autre ELISA tTG IgA		
		Positif	Négatif	Total
A. MENARINI DIAGNOSTICS	Positif	74	19	93
CELIAC tTG	Négatif	2	90	92
IgA ELISA	Total	76	109	185

Pourcentage Positif Concordance: 97.4% (95% CI 90.0% à 99.5%)

Pourcentage Négatif Concordance: 82.6% (95% CI 73.9% à 88.9%)

Pourcentage Général Concordance: 88.6% (95% CI 83.0% à 92.7%)

Sujets Cœliaques positifs aux EMA: 93

Contrôles maladie: 31

Sujets en bonne santé: 61

		Autre ELISA tTG IgG		
		Positif	Négatif	Total
A. MENARINI DIAGNOSTICS	Positif	74	21	95
CELIAC tTG	Négatif	31	184	215
IgG ELISA	Total	105	205	310

Pourcentage Positif Concordance: 70.5% (95% CI 60.7% à 78.8%)

Pourcentage Négatif Concordance: 89.8% (95% CI 84.6% à 93.4%)

Pourcentage Général Concordance: 83.2% (95% CI 78.5% à 87.1%)

Sujets Cœliaques positifs aux EMA: 166

Contrôles maladie: 53

Sujets en bonne santé: 91

B. Méthode de comparaison : Zenit Cœliaque tTG ELISA contre EMA par IFA.

		EMA IgA IFA		
		Positif	Négatif	Total
A. MENARINI DIAGNOSTICS	Positif	87	6	93
CELIAC tTG	Négatif	1	91	92
IgA ELISA	Total	88	97	185

Pourcentage Positif Concordance: 98.9% (95% CI 92.9% à 99.9%)

Pourcentage Négatif Concordance: 93.8% (95% CI 86.5% à 97.5%)

Pourcentage Général Concordance: 96.2% (95% CI 92.1% à 98.3%)

Sujets Cœliaques positifs aux EMA: 88

Sujets Cœliaques avec déficience en IgA: 88

Contrôles maladie: 31

Sujets en bonne santé: 61

		EMA IgG IFA		
		Positif	Négatif	Total
A. MENARINI DIAGNOSTICS	Positif	72	7	79
CELIAC tTG	Négatif	6	191	197
IgG ELISA	Total	78	198	276

Pourcentage Positif Concordance: 92.3% (95% CI 83.4% à 96.8%)

Pourcentage Négatif Concordance: 96.5% (95% CI 92.6% à 98.4%)

Pourcentage Général Concordance: 95.3% (95% CI 91.9% à 97.4%)

Sujets Cœliaques positifs aux EMA: 132 (74 Positifs IgG EMA)

Contrôles maladie: 53

Sujets en bonne santé: 91

C. Sensibilité et spécificité clinique: Des populations CD bien caractérisées ont été testées avec le test ELISA Celiac tTG en produisant les résultats suivants.

		Maladie cœliaque		
		Positif	Négatif	Total
A. MENARINI DIAGNOSTICS	Positif	88	5	93
CELIAC tTG	Négatif	5	87	92
IgA ELISA	Total	93	92	185

Sensibilité: 94.6% (95% CI 87.3% à 98.0%)

Spécificité: 94.6% (95% CI 87.2% à 98.0%)

Pourcentage concordance: 94.6% (95% CI 90.0% à 97.2%)

Sujets coeliaques positifs aux IgA EMA: 88

Sujets Cœliaques avec déficience en IgA: 5

Contrôles maladie: 31

Sujets en bonne santé: 61

CD sans déficience IgA

		Positif	Négatif	Total
A. MENARINI DIAGNOSTICS	Positif	87	0	87
CELIAC tTG	Négatif	1	0	1
IgA ELISA	Total	88	0	88

Sensibilité: 98.9% (95% CI 92.9% à 99.9%)

Spécificité: NA

Pourcentage Concordance: 98.9% (95% CI 92.9% à 99.9%)

Sujets cœliaques positifs aux IgA EMA: 88

Contrôles maladie: 0

Sujets en bonne santé: 0

Maladie Cœliaque

		Positif	Négatif	Total
A. MENARINI DIAGNOSTICS	Positif	72	7	79
CELIAC tTG	Négatif	60	137	197
IgG ELISA	Total	132	144	276

Sensibilité: 54.5% (95% CI 45.7% à 63.2%)

Spécificité: 95.1% (95% CI 89.9% à 97.9%)

Pourcentage Concordance: 75.7% (95% CI 70.1% à 80.6%)

Sujets CD confirmés par EMA: 132 (74 Positifs IgG EMA)

Contrôles maladie: 53

Sujets en bonne santé: 91

CD avec déficience IgA

		Positif	Négatif	Total
A. MENARINI DIAGNOSTICS	Positif	21	0	21
CELIAC tTG	Négatif	1	0	1
IgG ELISA	Total	22	0	22

Sensibilité: 95.5% (95% CI 75.1% à 99.8%)

Spécificité: NA

Pourcentage Concordance: 95.5% (95% CI 75.1% à 99.8%)

Sujets CD avec déficience IgA: 22

Contrôles maladie: 0

Sujets en bonne santé: 0

D. Réactivité croisée: Un total de 63 échantillons susceptibles de réactions croisées avec des individus ayant d'autres troubles auto-immunitaires ou positifs à d'autres anticorps ont été testés pour les anticorps tTG en utilisant le système Zenit Celiac tTG.

Condition	n	Positif IgA	Positif IgG
		n (%)	n (%)
Maladie de Graves	11	0 (0%)	0 (0%)
Thyroïdite de Hashimoto	10	0 (0%)	0 (0%)
Positif aux ANA*	9	0 (0%)	1 (11%)
Positif CCP **	10	0 (0%)	0 (0%)
Positif RF***	9	0 (0%)	0 (0%)
Colite ulcéreuse	5	0 (0%)	0 (0%)
Maladie de Crohn	9	0 (0%)	2 (22%)
Total	63	0 (0%)	3 (5%)

* Anticorps anti-nucléaires

** Anticorps peptides cycliques citrullinés

*** Anticorps Facteur Rhumatoïde

Précision

La précision a été testée avec de nombreux échantillons sélectionnés dans la gamme de test. Trois tests ont été réalisés des jours différents pour déterminer les différences de résultats entre les jours. Un autre cycle de six répétitions a été réalisé pour déterminer la répétitivité. Les résultats sont résumés ci-dessous.

Kit	N°E #	Moyenne (EU/ml)	Imprécision Totale		Entre jours		Intratests (répétitivité)	
			DS (EU/ml)	CV%	DS (EU/ml)	CV%	DS (EU/ml)	CV%
Test IgA Celiac tTG	1	10.6	1.086	10.2%	1.135	10.7%	1.095	10.2%
	2	20.4	1.224	6.0%	1.476	7.2%	0.956	4.7%
	3	25.0	1.496	6.0%	1.740	6.9%	1.271	5.1%
	4	34.9	2.075	5.9%	2.099	6.1%	2.110	6.0%
	5	48.7	2.634	5.4%	3.661	7.5%	1.090	2.2%
	6	110.6	4.008	3.6%	4.221	3.8%	3.960	3.6%
	7	134.7	7.253	5.4%	8.728	6.5%	5.904	4.4%
	8	183.7	6.161	3.4%	6.606	3.6%	5.615	3.0%
Test IgG Celiac tTG	1	15.3	1.100	7.2%	1.283	8.3%	0.929	6.1%
	2	24.3	1.727	7.1%	2.101	8.6%	1.355	5.6%
	3	29.8	1.931	6.5%	2.492	8.4%	1.289	4.3%
	4	60.5	3.046	5.0%	3.647	6.0%	2.507	4.1%
	5	99.1	4.720	4.8%	5.687	5.7%	3.756	3.8%
	6	233.7	10.022	4.3%	11.918	5.0%	7.108	3.1%
	7	263.5	13.061	5.0%	14.124	5.4%	11.794	4.4%

Limite de détection

La limite de détection (LoD) a été déterminée sur la base de 60 répétitions du blanc et de 10 répétitions de chacun des 6 échantillons niveau bas (NHS). La LoD pour IgA était de 4.0 EU/ml. La LoD pour IgG était de 2.9 EU/ml.

Linéarité et recouvrement

La linéarité et le recouvrement ont été testés en diluant des échantillons positifs dans la gamme de tests à des dilutions équidistantes et en comparant le résultat obtenu par rapport à celui attendu. Les gammes linéaires des

tests ont été déterminées comme étant 4.0 (LoD) – 160 EU/ml pour IgA et 2.9 (LoD) – 260 EU/ml pour IgG. Les résultats sont résumés ci-dessous:

Gamme de test (EU/ml)	Pente (95% CI)	Intercept en Y (95% CI)	R ²	% recouvrement (obtenu/attendu)
IgA				
6.0 à 62.7	0.932 (0.879 à 0.985)	0.926 (-1.240 à 3.091)	0.9943	97.9 à 108.3
3.0 à 157.0	0.947 (0.892 à 1.002)	0.999 (-4.347 à 6.345)	0.9979	94.5 à 107.7
3.3 à 163.6	0.910 (0.824 à 0.957)	3.239 (-1.628 à 8.106)	0.9946	85.0 à 109.5
IgG				
3.0 à 41.9	0.987 (0.970 à 1.004)	0.405 (-0.037 à 0.847)	0.9997	93.5 à 101.2
2.7 à 67.6	0.976 (0.839 à 1.112)	4.303 (-0.854 à 9.459)	0.9801	77.6 à 100.1
2.9 à 260.5	0.800 (0.648 à 0.951)	11.6 (-9.4 à 32.6)	0.9693	85.6 à 122.0

Interférence

L'interférence a été étudiée en mélangeant des sérums avec des niveaux d'anticorps tTG connus avec des échantillons de sérum potentiellement interférant et en étudiant la déviation par rapport aux résultats attendus. Aucune interférence importante n'a été démontrée pour les substances suivantes aux niveaux indiqués: Hémoglobine (2 g/L), Bilirubine (342 µmol/L), et Facteur Rhumatoïde (100 EU/ml).

REFERENCES

1. Guandalini S, Gupta P. Celiac disease- A diagnostic challenge. *Clin Appl Immun Rev* 2002; 2:293-305.
2. Fasano A, et al. Prevalence of celiac disease in at risk and not-at-risk groups in the United States 2003; 163:286-292.
3. Carpenter H, et al. Gastroscopy is incomplete without biopsy: Clinical relevance of distinguishing gastropathy from gastritis. *Gastroenterology* 1995; 108:917-924.
4. Catassi, et al. Risk of non-Hodgkin lymphoma in celiac disease *JAMA* 2002; 287:1413-1419.
5. Kurpa K et al. Diagnosing Mild Enteropathy Celiac Disease: A Randomized, Controlled Clinical Study. *Gastroenterology* 2009; 136: 816-823.
6. Hill ID, et al. Celiac disease: Working group report of the first world congress of pediatric gastroenterology, hepatology, and nutrition. *J. Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002; 35:S78-S88.
7. Rosario D, et al. Further studies of anti-endomysium and anti-gliadin antibodies in patients with suspected celiac disease. *J. Pediatr Gastroenterol Nutr* 1998; 27:191-195.
8. Sárdy M, et al. Tissue transglutaminase ELISA positivity in autoimmune disease independent of gluten-sensitive disease. *Clin Chim Acta.* 2007;376:126-35;
9. Song KS et al. Tissue transglutaminase autoantibodies in patients with IgM rheumatoid factors. *Yonsei Med J.* 2004;45:960-2.
10. Bizzaro N et al. Low specificity of anti-tissue transglutaminase antibodies in patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Lab Anal.* 2006;20:184-9.
11. Villalta D et al. False positive reactions for IgA and IgG anti-tissue transglutaminase antibodies in liver cirrhosis are common and method-dependent. *Clin Chim Acta.* 2005;356:102-09.
12. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Centers for Disease Control National Institutes of Health; 1993 (HHS Pub No [CDC] 93-8395).
13. Korponay-Szabo IR, Dahlbom I, Laurila K, et al. Elevation of IgG antibodies against tissue transglutaminase as a diagnostic tool for coeliac disease in selective IgA deficiency. *Gut.* 2003;52:1567-1571.
14. Sulkanen S, Haltunen T, Laurila K, et al. Tissue Transglutaminase autoantibody enzyme-linked immunosorbent assay in detecting celiac disease. *Gastroenterology*; 1998, 115:1322-1328.
15. Dietrich W, Laag E, Schopper H, et al. Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease; *Gastroenterology* 1998, 115:1317-1321.



A. Menarini Diagnostics S.r.l.
via Sette Santi 3
50131 Firenze
Italia

UK

UNITED KINGDOM

Distributed by

A. Menarini Diagnostics Ltd
405 Wharfedale Road
Winnersh - Wokingham
Berkshire RG41 5RA

EL

Διανέμεται στην
ΕΛΛΑΔΑ από την

A. Menarini Diagnostics S.A.
575, Vouliagmenis Ave.
16451 Argyroupolis
Attiki

ES

ESPAÑA

Distribuido por

A. Menarini Diagnosticos
S.A.
Avenida del Maresme, 120
08918 Badalona
Barcelona

DE

DEUTSCHLAND

Vertrieb durch

A. Menarini Diagnostics
Eine Division der Berlin-
Chemie AG
Glienicke Weg 125
12489 Berlin

AT

ÖSTERREICH

Vertrieb durch

A. Menarini Ges.m.b.H
Pottendorfer Straße, 25/27
A - 1120 Wien

FR

FRANCE

Distribué par

A. Menarini Diagnostics
France S.A.R.L.
3-5, Rue du Jura
BP 70511
94633 Rungis Cedex

BE

BELGIQUE

Distribué par

A. Menarini Diagnostics
Benelux S.A./N.V.
Belgicastraat, 4
1930 Zaventem

IT

ITALIA

Distribuito da

A. Menarini Diagnostics
Via lungo l'Ema, 7
50012 Bagno a Ripoli
Firenze

PT

PORTUGAL

Distribuido por

A. Menarini Diagnósticos, Lda
Quinta da Fonte
Edifício D.Manuel I, 2ºB
2770-203 Paço de Arcos

NL

NEDERLAND

Distributed by

A. Menarini Diagnostics
Benelux N.V.
De Haak, 8
5555 XK Valkenswaard

EN > Revision date: March 2010

EL > Ημερομηνία αναθεώρησης: Μάρτιος 2010

ES > Fecha de revisión: Marzo de 2010

DE > Datum der Überarbeitung: März 2010

FR > Date de révision: Mars 2010

IT > Data di revisione: Marzo 2010

PT > Data de revisão: Março de 2010

Document No. PI5144 M

