

CHORUS

DEAMIDATED GLIADIN-A



DIESSE Diagnostica Senese
S.p.A.
Via delle Rose, 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy

REF 86098

REF 86098/12

	Capitolo Section Capítulo
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision Cambios introducidos en la revisión actual Alterações introduzidas na revisão atual	3 – 4 – 5 – 7 – 13 – 14 – 15





ISTRUZIONI PER L'USO

CHORUS DEAMIDATED GLIADIN-A

Per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgA anti-Gliadina deamidata

Solo per uso diagnostico *in vitro*

1. UTILIZZAZIONE

Metodo immunoenzimatico per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgA anti-Gliadina deamidata nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUZIONE

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 ha un range fra 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. Gli EMA sono anticorpi che si legano all'endomizio, un componente extracellulare della muscolatura liscia e la loro determinazione tramite il test indiretto per immunofluorescenza (IFT) è stata fino ad ora un importante strumento nella diagnosi della celiachia.

Nella seconda metà degli anni 2000 sono stati scoperti gli anticorpi anti-peptidi deamidati della gliadina (DGP): questi anticorpi reagiscono con peptidi derivati dalla digestione della gliadina e successivamente deamidati dalla tTG. I kit per la ricerca di anticorpi anti-DGP, quindi, risultano più sensibili e più specifici per la diagnosi di GSE rispetto ai kit classici per gli anticorpi anti-gliadina.

La determinazione di anticorpi di classe IgG è molto importante soprattutto per i pazienti che presentano una carenza di IgA e nei quali, pertanto, gli anticorpi anti-gliadina deamidata non possono essere individuati tramite la determinazione di IgA.

Nei neonati la determinazione di anticorpi anti-gliadina è clinicamente rilevante, poiché in questo stadio non sono ancora presenti autoanticorpi anti-tTG o EMA. La gliadina rappresenta pertanto in pediatria il primo parametro sierologico per la diagnosi della celiachia.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il dispositivo Deamidated Gliadin-A è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgA anti-Gliadina deamidata, negli strumenti CHORUS. Il test si basa sul principio ELISA. L'antigene viene legato alla fase solida. Le immunoglobuline specifiche si legano all'antigene in seguito ad incubazione con siero umano diluito.

Dopo lavaggi per eliminare le proteine che non hanno reagito, si effettua l'incubazione con il coniugato costituito da anticorpi anti-immunoglobuline umane coniugate con perossidasi di rafano. Si elimina il coniugato che non si è legato e si aggiunge il substrato per la perossidasi. Il colore blu che si sviluppa è proporzionale alla concentrazione degli anticorpi specifici presenti nel siero in esame.

I dispositivi monouso contengono tutti i reagenti per eseguire il test quando applicati agli strumenti Chorus.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test approvati dall'FDA sia per la ricerca di HBsAg che per quella degli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 ed anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni di siero, i calibratori e le strip usate devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.
2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni.
3. Lavare accuratamente le mani una volta inseriti i dispositivi nello strumento Chorus.
4. I seguenti reagenti contengono concentrazioni basse di sostanze dannose o irritanti:

- a) Il coniugato contiene fenolo
- b) Il substrato è acido

Se un reagente viene a contatto con la pelle o con gli occhi, lavare abbondantemente con acqua.

5. Acidi neutralizzati ed altri rifiuti liquidi devono essere disinfettati aggiungendo sodio ipoclorito in un volume sufficiente da ottenere una concentrazione finale almeno dell'1%. Un'esposizione al sodio ipoclorito all'1% per 30 minuti dovrebbe essere sufficiente per garantire una disinfezione efficace.
6. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata. Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti. Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

Prima dell'uso, portare i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30°C) ed impiegare entro 60 minuti.

1. **Scartare i device con substrato (pozzetto 4) colorato di blu.**
2. Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
3. Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e la integrità del dispositivo stesso, non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente.
4. I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso e il Manuale dello strumento.
5. Controllare che lo strumento Chorus sia impostato correttamente (vedi Manuale d'uso Chorus).
6. Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
7. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
8. Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento.
9. Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
10. Non utilizzare campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, non completamente coagulati o che presentano inquinamento microbico.
11. Prima di inserire il dispositivo sullo strumento Chorus accertarsi che il pozzetto di reazione non contenga corpi estranei.
12. Pipettare il siero in esame (50 µl) nel pozzetto 1 del dispositivo (vedi figura).
13. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
14. **Controllare che lo strumento abbia la connessione con la Washing Buffer Autoimmunity (Ref. 86004)**

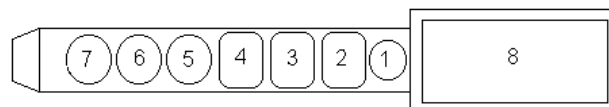
5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

Il kit è sufficiente per 36 determinazioni (REF 86098).
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86098/12).

DD DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86098).
2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86098/12).

Descrizione:



Posizione 8: Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

Posizione 7: Vuota

Posizione 6: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con peptidi specifici di gliadina deamidata

Posizione 5: POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

Posizione 4: SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL ed H₂O₂ 0.01% stabilizzati in tampone citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posizione 3: DILUENTE PER I CAMPIONI

Contenuto: Soluzione proteica salina contenente Proclin

Posizione 2: CONIUGATO

Contenuto: anticorpi monoclonali anti-IgA umane marcati con perossidasi, in soluzione tampone.

Posizione 1: POZZETTO VUOTO

Dove l'utilizzatore deve dispensare il siero non diluito.

Uso: equilibrare una busta a temperatura ambiente, aprire la busta, prelevare i dispositivi occorrenti; riporre gli altri nella busta contenente il gel di silice, far uscire l'aria e **sigillare** premendo sulla chiusura. Conservare a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRATORE

1 x 0.175 mL

Contenuto: Siero umano diluito, a concentrazione nota di anticorpi con conservante. Liquido, pronto all'uso.

CONTROL + CONTROLLO POSITIVO

1 x 0.425 mL

Contenuto: Siero umano diluito, a concentrazione nota di anticorpi con conservante. Liquido, pronto all'uso.

ALTRO MATERIALE RICHIESTO, MA NON FORNITO:

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 – 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- CHORUS/CHORUS TRIO (REF 81000-81200)
- Acqua distillata o deionizzata
- Normale vetreria di laboratorio: cilindri, provette, ecc.
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 50-200 µl.
- Guanti monouso

- Soluzione al 5% di sodio ipoclorito
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C. Nel caso di una errata temperatura di conservazione deve essere ripetuta la calibrazione e controllata la correttezza del risultato tramite il siero di controllo (vedi capitolo 9: Validazione del test).

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

Stabilità dopo apertura e/o preparazione:

DISPOSITIVI	8 settimane a 2/8°C
CALIBRATORE	8 settimane a 2/8°C
CONTROLLO POSITIVO	8 settimane a 2/8°C

7. TIPO DI CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per normale venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio.

Il siero fresco può essere mantenuto per 4 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C.

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinatori per la conservazione dei campioni. Dopo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

L'inattivazione al calore può fornire risultati erranei. La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

1. Aprire la busta (lato contenente la chiusura a pressione), prelevare il numero di dispositivi necessario per eseguire gli esami e conservare gli altri richiudendo la busta dopo aver fatto uscire l'aria.
2. Controllare visivamente lo stato del dispositivo secondo le indicazioni riportate nel capitolo 4 Avvertenze Analitiche.
3. Dispensare nel pozzetto n°1 di ciascun dispositivo 50 µl di siero non diluito da analizzare, ad ogni cambio di lotto utilizzare un dispositivo per il calibratore.
4. Introdurre i dispositivi sullo strumento Chorus. Eseguire la calibrazione (se richiesto) ed il test come riportato nel Manuale di Istruzione dello strumento.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Utilizzare il siero di controllo positivo per verificare la correttezza del risultato ottenuto, processandolo come indicato nel manuale d'uso dello strumento. Se lo strumento segnala che il siero di controllo ha un valore fuori dal limite di accettabilità occorre effettuare nuovamente la calibrazione. I risultati precedenti verranno corretti automaticamente.

Se il risultato del siero di controllo continua ad essere fuori dall'intervallo di accettabilità, contattare il Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Lo strumento Chorus/Chorus TRIO fornisce un risultato in unità arbitrarie (AU/ml) calcolate in base ad un grafico lotto-dipendente memorizzato nello strumento.

Il test sul siero in esame può essere interpretato come segue:

POSITIVO quando il risultato è > 18.0 AU/ml

NEGATIVO quando il risultato è < 12.0 AU/ml

DUBBIO/EQUIVOCO quando il risultato è compreso fra 12.0 e 18.0 AU/ml

In caso di risultato dubbio ripetere il test. Se il risultato rimane dubbio, ripetere il prelievo.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i risultati positivi necessitano di una attenta interpretazione.

Il test non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica.

Un risultato negativo non preclude la eventualità di malattia.

Il risultato del test deve essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. RANGE DI CALIBRAZIONE

Range di calibrazione 3.0-300 AU/ml.

Per campioni >300AU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control Sample Diluent (PF83607- non fornito con il kit).

13. INTERVALLI DI RIFERIMENTO

I valori attesi nella popolazione normale, determinati esaminando 120 sieri di donatori sani, erano compresi fra 3.0 e 10.8 AU/ml.

14. SENSIBILITA' E SPECIFICITA' DIAGNOSTICA

In una sperimentazione sono stati analizzati 162 campioni con kit Diesse e con altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
Diesse	+	+	-	Totale
	-	58	1	59
	Totale	3	100	103
		61	101	162

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

95.1% CI_{95%}: 86.4-98.3

Percent Negative Agreement (~Specificità Diagnostica):

99.0% CI_{95%}: 94.6-99.8

15. PRECISIONE

Campione	All'interno della seduta		Tra sedute	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	32.1	4.8	29.0	11.5
2	10.5	12.9	9.5	11.2
3	90.9	7.4	79.2	3.9

Campione	Tra lotti		Tra strumenti	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	27.8	11.0	27.8	10.9
2	10.5	12.7	10.3	14.5
3	74.6	7.8	76.3	8.3

18. BIBLIOGRAFIA

1. Dietrich W et al : 81997) Nat. Med. 3: 797-801.
2. Holtmeier W and Caspary WF (1998) Z. Gastroenterol. 36: 587-597.
3. Caspary WF, Holtmeier W (1999) Deutsches Arzteblatt 96 (36): A-2213-2214.
4. Catassi C. et al (1994) Lancet 343: 200-203.
5. Volta U. et al (2008) Dig Dis Sci 53(6): 1582-1588



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
 Via delle Rose 10
 53035 Monteriggioni (Siena)
 Italy





INSTRUCTIONS FOR USE

CHORUS DEAMIDATED GLIADIN-A

**For the semiquantitative determination of IgA
antibodies against deamidated Gliadin**

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Immunoenzymatic method for the semiquantitative determination of IgA antibodies against deamidated Gliadin in human serum, using a disposable device applied on the Chorus and Chorus TRIO instruments.

2. INTRODUCTION

Gluten-sensitive enteropathy or celiac disease is characterized by atrophy of the small intestinal villi leading to a so-called flat mucosa. It is caused by a pathological intolerance to Gliadin, the alcohol-soluble fraction of gluten in wheat, rye and barley. As celiac disease is caused by the intake of gluten, consequently a gluten-free diet cures the disease completely and thus has to be maintained throughout life. Renewed consumption of Gliadin leads to a return of the symptoms. The disease is HLA-associated (>95% of patients have DQ2 encoded by DQA1*0501 and DQB1*0201) and manifests at any age with a peak onset in early childhood, even in newborn babies. The incidence ranges from 1 in 4000 to 1 in 300 in European countries.

Diagnosis of celiac disease is made by small intestinal biopsy (demonstrating the flat mucosa) supported by serological markers. Antibodies against Gliadin and tissue Transglutaminase (tTG) are of major significance. tTG has been identified as the major target antigen of EMA antibodies binding to endomysium (extracellular constituent of smooth muscle) in indirect immunofluorescence test (IFT), which has so far been an important tool for the diagnosis of celiac diseases.

In the second half of the 2000s anti-gliadin deamidated peptide antibodies (DGP) were discovered: they react with peptides derived from the digestion of gliadin and subsequently are deamidated by tTG. The kits for the detection of anti-DGP antibodies, therefore, are more sensitive and more specific for the diagnosis of GSE compared to the classic kit for anti-gliadin antibodies.

The determination of IgG antibodies is very important especially for the patients with IgA deficiency, in which, therefore, anti-deamidated gliadin antibodies may not be detected by the evaluation of IgA concentration.

Antibodies to Gliadin may be the only serological marker in newborns as anti-tTG and EMA autoantibodies are not present at this age. Consequently anti-Gliadin antibodies are the earliest serological marker for pediatricians when diagnosing celiac disease.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The Deamidated Gliadin-A devices are ready to use for the assay of IgA antibodies against deamidated Gliadin in the CHORUS instruments. The test is based on the ELISA principle (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

The antigen is bound to the solid phase. The specific immunoglobulins are bound to the antigen through incubation with diluted human serum.

After washings to eliminate the proteins which have not reacted, incubation is performed with the conjugate, composed of anti-human immunoglobulins conjugated to horse radish peroxidase.

The unbound conjugate is eliminated, and the peroxidase substrate added.

The blue colour which develops is proportional to the concentration of specific antibodies present in the serum sample.

The disposable devices contain all the reagents to perform the test when applied on the Chorus instruments.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin which have been tested and gave a negative response by FDA-approved methods for the presence of HBsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. As no diagnostic test can offer a complete guarantee regarding the absence of infective agents, all material of human origin must be handled as potentially infectious. All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling material of human origin.

Waste disposal: serum samples, calibrators and strips once used must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the CHORUS instrument.
4. The following reagents contain low concentrations of harmful or irritant substances:
 - a) The conjugate contains phenol
 - b) The substrate is acid

If any of the reagents come into contact with the skin or eyes, wash the area extensively with water.

5. Neutralized acids and other liquid waste should be decontaminated by adding a sufficient volume of sodium hypochlorite to obtain a final concentration of at least 1%. A 30 minute exposure to 1% sodium hypochlorite may be necessary to ensure effective decontamination.
6. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1.0% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical Precautions

Bring the devices to room temperature (18-30°C) before use; use within 60 min.

1. **Discard devices which show the substrate (well 4) blue colored.**
2. Adding the sample into the well verify that it is perfectly distributed on the bottom.
3. Check for the presence of the reagents in the device and that the device is not damaged; do not use devices which are lacking a reagent.
4. The devices are for use with the Chorus instrument; the instructions for use must be carefully followed and the instrument operating manual must be consulted.
5. Check that the Chorus instrument is set up correctly (see Chorus Operating Manual).
6. Do not alter the bar code placed on the handle of the device in order to allow correct reading by the instrument.
7. Avoid using self-defrosting freezers for the storage of the samples.
8. Defective barcodes can be inserted manually in the instrument.
9. Do not expose the devices to strong light or to hypochlorite vapors during storage and use.
10. Do not use strongly hemolyzed, lipemic, icteric samples, not completely coagulated samples or samples presenting microbial contamination.
11. Before inserting the devices in the instrument, check that the reaction well does not contain foreign bodies.
12. Pipette the test serum (50 µl) in well 1 of the device (see figure).
13. Do not use the device after the expiry date.
14. **Make sure that the instrument is connected to the Washing Buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The kit is sufficient for 36 tests (REF 86098).

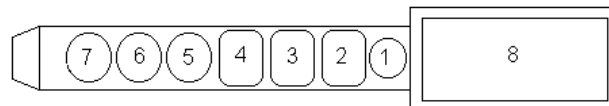
The kit is sufficient for 12 tests (REF 86098/12).

DD DEVICES

6 packages each containing 6 devices (REF 86098).

2 packages each containing 6 devices (REF 86098/12).

Description:



Position 8: Space for application of bar code label

Position 7: Empty

Position 6: MICROPLATE WELL

Coated with specific peptides of deamidated gliadin

Position 5: Uncoated MICROPLATE WELL

Position 4: TMB SUBSTRATE

Contents: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL and H₂O₂ 0.01% stabilized in 0.05 mol/L citrate buffer (pH 3.8)

Position 3: SAMPLE DILUENT

Contents: saline proteic solution with Proclin

Position 2: CONJUGATE

Contents: monoclonal antibodies anti-human IgA labelled with peroxidase in buffer solution

Position 1: EMPTY WELL

In which the operator must place the undiluted serum

Use: equilibrate a package at room temperature, open the package and remove the required devices; replace the others in the bag with the silica gel, expel the air and seal by pressing the closure. Store at 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 mL

Contents: Diluted human serum, at known antibody concentration with preservative. Liquid, ready for use.

CONTROL + POSITIVE CONTROL

1 x 0.425 mL

Contents: Diluted human serum, at known antibody concentration with preservative. Liquid, ready for use.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 – 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- CHORUS/CHORUS TRIO (REF 81000 – 81200)
- Distilled or deionised water
- Normal laboratory glassware: cylinders, test-tubes etc.
- Micropipettes for the accurate collection of 50-200 µl solution
- Disposable gloves
- Sodium Hypochlorite solution (5%)
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C. In the case of storage at an incorrect temperature the calibration must be

repeated and the run validated using the control serum (see section 9, Test validation).

The expiry date is printed on each component and on the kit label.

Reagents have a limited stability after opening:

DEVICES	8 weeks at 2/8°C
CALIBRATOR	8 weeks at 2/8°C
POSITIVE CONTROL	8 weeks at 2/8°C

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum collected in the normal manner from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice. The fresh serum may be stored for 4 days at 2/8°C, or frozen for longer periods at -20°C, and can be thawed a maximum of 3 times. Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Heat-inactivation can rise to erroneous results. Defrosted samples must be shaken carefully before use. The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

8. ASSAY PROCEDURE

1. Open the package (on the side containing the pressure-closure), remove the number of devices required and seal the rest in the bag after expelling the air.
2. Check the state of the device according to the indications reported in chapter 4, Analytical Precautions.
3. Dispense 50 µl of undiluted test serum in well no. 1 of each device; at each change of batch, use a device for the calibrator.
4. Place the devices in the Chorus instrument. Perform the calibration (if necessary) and the test as reported in the Chorus Operating Manual.

9. TEST VALIDATION

Use the control serum to check the validity of the results obtained. It should be used as reported in the operating manual. If the instrument signals that the control serum has a value outside the acceptable range, the calibration must be repeated. The previous results will be automatically corrected. If the result of the control serum continues to be outside the acceptable range, contact the Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

The Chorus/Chorus TRIO instrument expresses the result in AU/ml calculated on the basis of a batch-dependent curve stored in the instrument.

The test serum can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the ratio is > 18.0 AU/ml

NEGATIVE: when the ratio is < 12.0 AU/ml

DOUBTFUL/EQUIVOCAL: for all values between 12.0 and 18.0 AU/ml

In the case of a doubtful result, repeat the test. If the test remains doubtful, collect a new sample.

11. LIMITATIONS

All the positive results require a careful interpretation.

The test cannot be used as only method for a clinical diagnosis.

Negative results may not exclude an eventual infection.

The test results should be interpreted in conjunction with information available from the clinical evaluation and other diagnostic procedures.

12. CALIBRATION RANGE

Calibration range 3.0-300 AU/ml.

For samples with a titer > 300AU/ml repeat the test pre-diluting the sample with Negative Control/Sample Diluent (PF83607 – not supplied with the kit).

13. REFERENCE RANGE

Among the normal population the expected values, which have been determined by examining 120 sera from healthy donors, were between 3.0 and 10.8 AU/ml.

14. DIAGNOSTIC SENSITIVITY AND SPECIFICITY

In an external experimentation 162 samples were tested with the Diesse kit and with another commercial kit.

The results are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	58	1	59
	-	3	100	103
	Total	61	101	162

Percent Positive Agreement (~ Diagnostic Sensitivity):

95.1% CI_{95%}: 86.4-98.3

Percent Negative Agreement (~ Diagnostic Specificity):

99.0% CI_{95%}: 94.6-99.8

15. PRECISION

Sample	Within-run Precision		Between-run precision	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	32.1	4.8	29.0	11.5
2	10.5	12.9	9.5	11.2
3	90.9	7.4	79.2	3.9

Sample	Precision between batches		Precision between instruments	
	Mean (AU/ml)	CV%	Mean (AU/ml)	CV%
1	27.8	11.0	27.8	10.9
2	10.5	12.7	10.3	14.5
3	74.6	7.8	76.3	8.3

18. REFERENCES

1. Dietrich W et al : 81997) Nat. Med. 3: 797-801.
2. Holtmeier W and Caspary WF (1998) Z. Gastroenterol. 36: 587-597.
3. Caspary WF, Holtmeier W (1999) Deutsches Arzteblatt 96 (36): A-2213-2214.
4. Catassi C. et al (1994) Lancet 343: 200-203.
5. Volta U. et al (2008) Dig Dis Sci 53(6): 1582-1588



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





NÁVOD NA POUŽITÍ

CHORUS DEAMIDOVANÝ GLIADIN A

K semikvantitativnímu stanovení IgA protilátek proti deamidovanému gliadinu

Určeno pouze k diagnostice *in vitro*

1. ÚČEL POUŽITÍ

Imunoenzymatická metoda k semikvantitativnímu stanovení IgA protilátek proti deamidovanému gliadinu v lidském séru za použití jednorázového zařízení aplikovaného do zařízení Chorus nebo Chorus TRIO.

2. ÚVOD

Gluten-senzitivní enteropatie neboli celiakie je charakterizována atrofií klků tenkého střeva, která vede k tzv. ploché sliznici. Ta vzniká následkem patologické nesnášenlivosti gliadinu, alkoholem rozpustné frakce lepku pocházejícího z pšenice, žita nebo ječmene. Celiakie je způsobena konzumací lepku, a proto je možné toto onemocnění úplně vyléčit aplikací bezlepkové diety, kterou je však nutné dodržovat po celý život. Dojde-li znovu ke konzumaci lepku, symptomy se vrátí. Onemocnění je asociované s HLA (> 95 % pacientů má DQ2 kódovaný DQA1*0501 a DQB1*0201) a projevuje se v kterémkoli věku s počáteční kulminací v útlém dětství, někdy dokonce u novorozenců. Počet případů se v evropských zemích pohybuje od 1 ze 4000 do 1 z 300.

Celiakie se diagnostikuje na základě biopsie tenkého střeva (výskyt ploché sliznice) a serologických markerů. Velký význam mají protilátky proti gliadinu a tkáňové transglutamináze (tTG). Při testu nepřímou imunofluorescencí (IFT) byla tTG identifikována jako hlavní cílový antigen protilátek proti EMA vařících se na endomyzium (extracelulární konstituent hladkého svalstva). IFT zůstává dosud důležitým nástrojem pro diagnostiku celiakie.

V druhé polovině prvního desetiletí 21. století byly objeveny protilátky proti deaminovaným peptidům gliadinu (DGP): tyto protilátky reagují s peptidy pocházejícími z trávení gliadinu a následně deamidovanými pomocí tTG. Sady pro detekci protilátek anti-DGP jsou tedy mnohem citlivější a specifitější pro diagnózu GSE ve srovnání s klasickými sadami pro detekci protilátek proti gliadinu. Stanovení protilátek třídy IgG je velmi důležité, zvláště u pacientů, u nichž se vyskytuje deficit IgA, a u nichž tedy nemohou být protilátky proti deamidovanému gliadinu detekovány prostřednictvím určení IgA.

Protilátky proti gliadinu jsou možná jediným serologickým markerem u novorozenců, protože se v tomto věku ještě nevyskytují autoprotilátky anti-tTG a EMA. Při diagnostice

celiakie jsou tedy pro pediatra protilátky proti gliadinu tím nejranějším markerem.

3. PRINCIP METODY

Nástroje s deamidovaným gliadinem A jsou připraveny k použití pro zkoušku na IgA protilátky proti deamidovanému gliadinu v zařízení CHORUS. Test je založen na principu ELISA (Enzymaticky vázaná imunosorbentní zkouška).

Antigen je vázán na pevnou fázi.

Specifické imunoglobuliny jsou vázány na antigen inkubací s naředěným lidským sérem.

Po promytí k eliminaci nereagujících bílkovin se provede inkubace s konjugátem složeným z anti-lidských imunoglobulinů konjugovaných s křenovou peroxidázou.

Nevázaný konjugát je eliminován a přidá se peroxidázový substrát.

Modré zabarvení, které vznikne, je přímo úměrné koncentraci specifických protilátek přítomných ve vzorku séra.

Jednorázové nástroje obsahují veškeré reagenty potřebné k provedení testu při použití zařízení Chorus.

4. VÝSTRAHY A BEZPEČNOSTNÍ UPOZORNĚNÍ

URČENO POUZE K DIAGNOSTICE *IN VITRO*

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a vykazaly negativní výsledky při použití metod schválených FDA pro stanovení přítomnosti HbsAg a anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV protilátek. Protože však žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku, že infekční agens nejsou přítomni, je třeba s veškerým materiálem lidského původu zacházet tak, jako by byl potenciálně infekční. Při zacházení s materiálem lidského původu je nutné dodržovat všechna relevantní opatření používaná v laboratorní praxi.

Likvidace odpadu: S použitými vzorky sér, kalibrátory a stripy je třeba zacházet jako s infekčními rezidui a likvidovat je v souladu s legislativou.

Informace týkající se zdraví a bezpečnosti

7. Nepipetujte ústy.
8. Při zacházení se vzorky mějte nasazený jednorázový rukavice a chraňte si oči.
9. Po vložení nástrojů do zařízení CHORUS si důkladně umyjte ruce.
10. Následující reagenty obsahují nízké koncentrace škodlivých nebo dráždivých látek:
 - c) Konjugát a kontroly obsahují fenol.
 - d) Substrát obsahuje kyselinu.

Přijďte-li jakákoliv reagentie do kontaktu s kůží nebo očima, omyjte danou oblast vydatně vodou.

11. Neutralizované kyseliny i jiný tekutý odpad je třeba dekontaminovat přidáním dostatečného množství chlornanu sodného tak, aby konečná koncentrace dosahovala alespoň 1 %. Pro účinnou dekontaminaci je nutné nechat působit 1% chlornan sodný po dobu 30 minut.

12. Rozlitý potenciálně infekční materiál je třeba okamžitě odstranit pomocí absorpčního papírového ručníku a kontaminovanou oblast umýt, například 1,0% chlornanem sodným, a to předtím, než budete v práci pokračovat. Chlornan sodný nepoužívejte na rozlité tekutiny s obsahem kyseliny, ty musíte nejprve otřením vysušit. Materiály použité k čištění potřísněných povrchů, včetně rukavic, se musí likvidovat jako potenciálně životu nebezpečný odpad. Materiál obsahující chlornan sodný nevracíte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Než nástroje použijete, nechte je vytemperovat na pokojovou teplotu (18–30 °C) a použijte je do 60 min.

16. **Nástroje vykazující modré zabarvení substrátu (jamka 4) zlikvidujte.**
17. Při aplikaci vzorku do jamky si ověřte, že je po dně dokonale rozprostřen.
18. Zkontrolujte, že v nástroji jsou přítomny všechny reagenty a že nástroj není poškozen; nástroje, ve kterých chybí reagenty, nepoužívejte.
19. Nástroje jsou určeny pro použití se zařízením Chorus; je třeba pečlivě dodržovat návod na použití a řídit se příručkou k obsluze nástroje.
20. Zkontrolujte, že je zařízení Chorus správně nastaveno (viz Návod k obsluze zařízení Chorus).
21. Čárový kód na rukojeti nástroje nikdy neměňte, aby jej zařízení správně přečetlo.
22. Ke skladování vzorků nepoužívejte mrazáky, které se samy odmrazují.
23. Defektní čárové kódy lze vložit do zařízení manuálně.
24. Během skladování a používání nevystavujte nástroje silnému světlu či chlornanovým výparům.
25. Nepoužívejte silně hemolyzované, lipemické, ikterické, neúplně koagulované nebo mikrobiálně kontaminované vzorky.
26. Než do zařízení vložíte nástroje, ujistěte se, že reakční jamka neobsahuje cizí tělesa.
27. Testované sérum (50 µl) pipetujte do jamky 1 nástroje (viz obrázek).
28. Nástroj nepoužívejte po datu spotřeby.
29. **Ujistěte se, že je nástroj připojen k promývacímu pufru Washing Buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. OBSAH SOUPRAVY A PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Souprava vystačí na 36 stanovení (REF 86098).

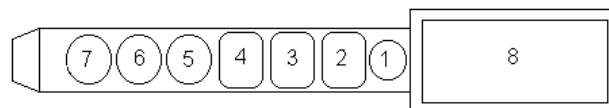
Souprava vystačí na 12 stanovení (REF 86098/12).

DD NÁSTROJE

6 balení po 6 nástrojích (REF 86098).

2 balení po 6 nástrojích (REF 86098/12).

Popis nástroje:



Pozice 8: Prostor pro aplikaci štítku s čárovým kódem

Pozice 7: prázdná

Pozice 6: MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Senzibilizována specifickými peptidy deamidovaného gliadinu

Pozice 5: Nepotažená MIKROTITRAČNÍ JAMKA

Pozice 4: TMB SUBSTRÁT

Obsah: Tetramethylbenzidin 0.26 mg/ml a H₂O₂ 0.01% stabilizovaná v 0,05 mol/l citrátového pufru (pH 3.8)

Pozice 3: ŘEDIDLO VZORKU

Obsah: solný bílkovinný roztok s Proclinem

Pozice 2: KONJUGÁT

Obsah: Antilidské monoklonální IgA protilátky značené křenovou peroxidázou, ve fosfátovém pufru obsahujícím 0.05% fenol a 0.02% Bronidox v roztoku pufru

Pozice 1: PRÁZDNÁ JAMKA

do níž obsluha umístí nefeděné sérum.

Použití: přiveďte balení na pokojovou teplotu, otevřete balení a vyjměte požadované nástroje; ostatní vložte do sáčku se silikagelem, vytlačte vzduch a **uzavřete** stisknutím. Skladujte při teplotě 2–8°C.

CALIBRATOR KALIBRÁTOR

1 x 0.175 mL

Obsah: Naředěné lidské sérum se známou koncentrací protilátek, obsahuje konzervační prostředek, tekutina připravena k použití.

CONTROL + POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 0.425 mL

Obsah: Naředěné lidské sérum se známou koncentrací protilátek, obsahuje konzervační prostředek, tekutina připravena k použití.

POTŘEBNÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- CHORUS/CHORUS TRIO REF 81000-81200
- Destilovaná nebo deionizovaná voda.
- Běžné laboratorní sklo: odměrné válce, zkumavky atd.
- Mikropipety pro přesný sběr 50–200 µl roztoku.
- Jednorázové rukavice.
- Roztok chlornanu sodného (5%).
- Kontejnery pro sběr potenciálně nebezpečného materiálu.

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA REAGENCIÍ

Reagenty je nutné skladovat při teplotě 2–8 °C. Skladujete-li reagenty při nesprávné teplotě, je nutné zopakovat kalibraci a test validovat pomocí kontrolního séra (viz bod 9, Validace testu).

Datum spotřeby je vytištěno na každém komponentu a na štítku soupravy.

Reagencie mají po otevření omezenou stabilitu:

NÁSTROJE	8 týdnů při teplotě 2–8 °C
KALIBRÁTOR	8 týdnů při teplotě 2–8 °C
POZ. KONTROLA	8 týdnů při teplotě 2–8 °C

7. SBĚR A SKLADOVÁNÍ VZORKŮ

Vzorek je sérum sebrané běžným způsobem ze žíly, se kterým bylo nakládáno za dodržení opatření předepsaných dobrou laboratorní praxí. Čerstvé sérum lze skladovat 4 dny při teplotě 2–8 °C, nebo zmrazit na delší dobu při teplotě -20 °C. Romrazovat se smí maximálně 3 krát. Neskladujte vzorky v mrazácích s automatickým odmrazením. Inaktivace horkem může vést k chybným výsledkům. Rozmrazené vzorky je nutné před použitím pečlivě protřepat. Kvalita vzorku může být silně narušena mikrobiální kontaminací, což by vedlo k chybným výsledkům.

8. POSTUP

1. Otevřete balení (na straně s tlakovým uzávěrem), vyjměte požadované množství nástrojů a poté, co jste z balení vytlačili vzduch, je opět uzavřete.
2. Zkontrolujte stav zařízení podle údajů uvedených v kapitole 4, Opatření pro správné provedení testu.
3. Vložte 50 µl neředěného testovaného séra do jamky č. 1 každého nástroje; při každé změně šarže použijte nástroj na kalibraci.
4. Nástroje umístěte do zařízení Chorus a proveďte kalibraci (je-li třeba) a test podle Návodu k obsluze zařízení Chorus.

9. OVĚŘENÍ TESTU

Pomocí kontrolního séra ověřte správnost získaných výsledků. Použijte je v souladu s instrukcemi uvedenými v návodu na obsluhu. Pokud zařízení ukáže, že se hodnota kontrolního séra pohybuje mimo přijatelné rozmezí, kalibraci je třeba opakovat. Předchozí výsledky budou automaticky opraveny.

Pokud je výsledek kontrolního séra i nadále mimo přijatelné rozmezí, zatelefonujte prosím do oddělení vědecké podpory.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Chorus/Chorus TRIO nástroj vyjadřuje výsledky v AU/ml vypočtených na základě křivky pro danou šarži, která je součástí nástroje.

Testované sérum lze interpretovat takto:

POZITIVNÍ: při poměru > 18.0 AU/ml

NEGATIVNÍ: při poměru < 12.0 AU/ml

SPORNÉ/NEJASNÉ: pro všechny hodnoty mezi 12.0 a 18.0 AU/ml

V případě sporného výsledku test zopakujte. Zůstává-li test sporný, seberte nový vzorek.

11. OMEZENÍ

Všechny pozitivní výsledky vyžadují pečlivou interpretaci.

Test nelze použít pouze jako jedinou metodu pro stanovení klinické diagnózy.

Negativní výsledky nemusí vylučovat eventuální infekci.

Výsledky testu je třeba interpretovat v kombinaci s informacemi získanými z klinického vyhodnocení a na základě ostatních diagnostických procedur.

12. KALIBRAČNÍ ROZMEZÍ

Získaný titr musí ležet v kalibračním rozmezí 3.0–300.0 AU/ml.

Pro vzorky > 300.0 AU/ml test zopakujte s předředěním vzorku pomocí ředícího roztoku pro negativní kontrolu/vzorek (PF83607 – není součástí soupravy).

13. REFERENČNÍ ROZMEZÍ

V normální populaci se očekávané hodnoty, stanovené na základě měření 120 sér od zdravých dárců, pohybovaly mezi 3.0 a 10.8 AU/ml.

14. DIAGNOSTICKÁ CITLIVOST A SPECIFIČNOST

V externím experimentu bylo testováno 162 vzorků pomocí soupravy Diesse a jiné komerční soupravy.

Výsledky shrnuje následující tabulka:

		Reference		
		+	–	Celkem
Diesse	+	58	1	59
	–	3	100	103
	Celkem	61	101	162

Pozitivní shoda v procentech (~ diagnostická citlivost)

95.1% CI_{95%}: 86.4-98.3

Negativní shoda v procentech: (~ diagnostická specifičnost):

99.0% CI_{95%}: 94.6-99.8

15. PŘESNOST

Vzorek	Přesnost v rámci měření		Přesnost mezi měřeními	
	Průměr (AU/ml)	CV %	Průměr (AU/ml)	CV %
1	32.1	4.8	29.0	11.5
2	10.5	12.9	9.5	11.2
3	90.9	7.4	79.2	3.9

Vzorek	Přesnost mezi šaržemi		Přesnost mezi nástroji	
	Průměr (AU/ml)	CV %	Průměr (AU/ml)	CV %
1	27.8	11.0	27.8	10.9
2	10.5	12.7	10.3	14.5
3	74.6	7.8	76.3	8.3

16. REFERENČNÍ LITERATURA

6. Dietrich W et al : 81997) Nat. Med. 3: 797-801.
7. Holtmeier W and Caspary WF (1998) Z. Gastroenterol. 36: 587-597.
8. Caspary WF, Holtmeier W (1999) Deutsches Arzteblatt 96 (36): A-2213-2214.
9. Catassi C. et al (1994) Lancet 343: 200-203.
10. Volta U. et al (2008) Dig Dis Sci 53(6): 1582-1588



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





ΟΔΗΓΙΕΣ ΧΡΗΣΗΣ

CHORUS DEAMIDATED GLIADIN-A

**Για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των
αντισωμάτων IgA έναντι απαμιδιωμένης
γλιαδίνης**

Μόνο για διαγνωστική χρήση *in vitro*

1. ΧΡΗΣΗ

Ανοσοενζυμική μέθοδος για τον ημιποσοτικό προσδιορισμό των αντισωμάτων IgA έναντι απαμιδιωμένης γλιαδίνης στον ανθρώπινο ορό με συσκευή μίας χρήσης που χρησιμοποιείται μαζί με τους αναλυτές Chorus και Chorus TRIO.

2. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ευαίσθητη στη γλουτένη (GSE) εντεροπάθεια ή κοιλιοκάκη, χαρακτηρίζεται από ατροφία των λάχνων του εντέρου ακολουθούμενη από λείανση του βλεννογόνου. Αιτία αυτής της πάθησης είναι η παθολογική δυσανεξία προς την γλιαδίνη. Η γλιαδίνη είναι το διαλυτό στο οινόπνευμα μέρος της γλουτένης, ένα συστατικό των σιτηρών, της σίκαλης και της κρήνης.

Η κοιλιοκάκη προκαλείται από τη λήψη της γλουτένης. Ως θεραπευτική αγωγή πρέπει να ακολουθηθεί εφ' όρου ζωής, ένα διαιτολόγιο χωρίς γλουτένη, επειδή τα συμπτώματα μπορεί πάντοτε να επανεμφανιστούν σε περίπτωση νέας λήψης γλουτένης. Η κοιλιοκάκη είναι μία συζευγμένη HLA και το 95% των ασθενών που πάσχουν από κοιλιοκάκη, παρουσιάζει το αντιγόνο DQ2 αποτελούμενο από DQA1*0501 και DQB1*0201. Η ασθένεια μπορεί να εκδηλωθεί σε όλες τις ηλικίες, πιο συχνά όμως κατά την πρώιμη παιδική ηλικία και μερικώς δε και στα νεογνά. Στην Ευρώπη η συχνότητα των περιπτώσεων κυμαίνεται από 1/4000 μέχρι 1/300.

Η τελική διάγνωση, με την εξακρίβωση της χαρακτηριστικής λείανσης του βλεννογόνου, γίνεται μέσω βιοψίας του λεπτού εντέρου συνοδευόμενη από ορολογικούς δείκτες (marker). Τα αντισώματα αντι-γλιαδίνη και ιστική αντι-τρανσγλουταμινάση (tTG) σε αυτή την περίπτωση αποδεικνύονται ιδιαίτερα σημαντικά. Η tTG ταυτοποιήθηκε ως το αντιγόνο target των EMA. Τα EMA είναι αντισώματα που συνδέονται με το ενδομύσιο, ένα εξωκυτταρικό συστατικό μέρος των λείων μυών, και ο προσδιορισμός τους μέσω άμεσης δοκιμασίας ανοσοφθορισμού (IFT) αποτελούσε μέχρι σήμερα ένα σημαντικό υποβοηθητικό μέσο στη διάγνωση της κοιλιοκάκης. Στο δεύτερο μισό της δεκαετίας του 2000 ανακαλύφθηκαν τα αντισώματα έναντι των απαμιδιωμένων πεπτιδίων της γλιαδίνης (DGP): αυτά τα αντισώματα αντιδρούν με τα

πεπτιδία που απελευθερώνονται κατά την πέψη της γλιαδίνης και τα οποία στη συνέχεια απαμιδιώνονται από την τρανσγλουταμινάση (tTg). Κατά συνέπεια, τα kit ελέγχου αντισωμάτων έναντι DGP έχουν υψηλότερη ευαισθησία και ειδικότητα στη διάγνωση εντεροπάθειας λόγω δυσανεξίας στη γλουτένη (GSE) σε σχέση με τα συμβατικά kit ελέγχου αντισωμάτων έναντι γλιαδίνης. Ο προσδιορισμός των αντισωμάτων τάξης IgG έχει ιδιαίτερη σημασία κυρίως για ασθενείς με ανεπάρκεια αντισωμάτων IgA, στους οποίους τα αντισώματα έναντι της απαμιδιωμένης γλιαδίνης δεν μπορούν να ανιχνευθούν με προσδιορισμό των αντισωμάτων IgA.

Στα νεογνά ο προσδιορισμός των αντισωμάτων αντι-γλιαδίνης έχει μεγάλη κλινική σημασία, επειδή σε αυτό το στάδιο δεν υπάρχουν ακόμα τα αυτοαντισώματα αντι-tTG ή EMA. Η γλιαδίνη αποτελεί λοιπόν στην παιδιατρική την πρώτη ορολογική παράμετρο για τη διάγνωση της κοιλιοκάκης.

3. ΒΑΣΙΚΗ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Η συσκευή Deamidated Gliadin-A είναι έτοιμη για χρήση με σκοπό τον προσδιορισμό των αντισωμάτων IgA έναντι απαμιδιωμένης γλιαδίνης στους αναλυτές CHORUS. Η δοκιμασία βασίζεται στη μέθοδο ELISA. Το αντιγόνο δεσμεύεται στη στερεά φάση. Οι ειδικές ανοσοσφαιρίνες συνδέονται με το αντιγόνο μετά από επώαση με αραιωμένο ανθρώπινο ορό.

Αφού πραγματοποιηθούν εκπλύσεις για να απομακρυνθούν οι πρωτεΐνες που δεν αντέδρασαν, γίνεται επώαση με το σύμπλοκο που αποτελείται από αντισώματα έναντι ανθρώπινων ανοσοσφαιρινών συζευγμένων με υπεροξειδάση αργιοραφάνιδων. Απομακρύνεται το σύμπλοκο που δεν αντέδρασε και προστίθεται το υπόστρωμα για την υπεροξειδάση. Το κυανό χρώμα που σχηματίζεται είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση των ειδικών αντισωμάτων που υπάρχουν στο δείγμα του ορού.

Οι συσκευές μίας χρήσης περιέχουν όλα τα αντιδραστήρια που απαιτούνται για να εκτελεστεί η δοκιμασία στους αναλυτές Chorus.

4. ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

ΜΟΝΟ ΓΙΑ ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΧΡΗΣΗ *IN VITRO*.

Αυτό το kit περιέχει υλικά ανθρώπινης προέλευσης που έχουν ελεγχθεί και έχουν βρεθεί αρνητικά σε δοκιμασίες εγκεκριμένες από την FDA, τόσο όσον αφορά την ανίχνευση του HbsAg όσο και για τα αντισώματα αντι-HIV-1, αντι-HIV-2 και αντι-HCV. Επειδή καμία διαγνωστική δοκιμασία δεν προσφέρει απόλυτη εγγύηση απουσίας μολυσματικών παραγόντων, κάθε υλικό ανθρώπινης προέλευσης πρέπει να θεωρείται δυνητικά μολυσματικό. Χρησιμοποιείτε όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα παίρνοντας όλες τις προφυλάξεις που προβλέπονται από τους κανονισμούς ασφαλείας του εργαστηρίου.

Διάθεση αποβλήτων: τα δείγματα ορού, οι βαθμονομητές και οι ταινίες που χρησιμοποιούνται πρέπει να επεξεργάζονται ως μολυσματικά απόβλητα και στη

συνέχεια να διατίθενται σύμφωνα με τις διατάξεις των ισχυόντων νόμων.

Οδηγίες για την προσωπική σας ασφάλεια

1. Μην κάνετε αναρρόφηση με το στόμα.
2. Χρησιμοποιείτε γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά όταν χειρίζεστε τα δείγματα και κατά τη διάρκεια της ανάλυσης.
3. Πλένετε πολύ καλά τα χέρια σας μόλις τελειώσετε τη δοκιμασία.
4. Η περιεκτικότητα των παρακάτω αντιδραστηρίων σε βλαβερές ή ερεθιστικές ουσίες, είναι χαμηλή:
 - α) το σύμπλοκο και τα αντιδραστήρια ελέγχου περιέχουν φαινόλη
 - β) Το υπόστρωμα είναι όξινο
 Αν ένα αντιδραστήριο έρθει σε επαφή με το δέρμα ή με τα μάτια, ξεπλύνετε με άφθονο νερό.
5. Εξουδετερωμένα οξέα και άλλα υγρά απόβλητα πρέπει να απολυμαίνονται προσθέτοντας υποχλωριώδες νάτριο, τόσο όσο χρειάζεται ώστε η τελική συγκέντρωση να είναι τουλάχιστον 1%. Μια έκθεση σε υποχλωριώδες νάτριο στο 1% για 30 λεπτά, υπό κανονικές συνθήκες είναι αρκετή για να υπάρξει μία αποτελεσματική απολύμανση.
6. Χυμένα υγρά, δυνητικά μολυσματικά, πρέπει να καθαρίζονται αμέσως με απορροφητικό χαρτί και η ζώνη που έχει μολυνθεί θα πρέπει να απολυμαίνεται, για παράδειγμα με υποχλωριώδες νάτριο 1%, πριν να συνεχίσετε την εργασία. Παρουσία οξέος, το υποχλωριώδες νάτριο δεν πρέπει να χρησιμοποιείται πριν να στεγνώσει η ζώνη. Όλα τα υλικά, που χρησιμοποιήθηκαν για να καθαριστούν τυχόν χυμένα υγρά, πρέπει να απορρίπτονται ως δυνητικά μολυσματικά απόβλητα. Μην βάζετε στον κλίβανο υλικά που περιέχουν υποχλωριώδες νάτριο.

Αναλυτικές οδηγίες

Πριν από την χρήση φέρτε τα σετ σε θερμοκρασία περιβάλλοντος (18-30°C) και χρησιμοποιήστε τα μέσα σε 60 λεπτά.

1. **Απορρίψτε τις ταινίες όπου το υπόστρωμα (θέση 4) έχει γίνει μπλε.**
2. Αφού ρίξετε το δείγμα στην κυψελίδα, ελέγξτε αν έχει καταμετρηθεί ομοιόμορφα στον πυθμένα.
3. Ελέγξτε αν υπάρχουν στο σετ όλα τα αντιδραστήρια και αν το σετ είναι άθικτο. Μην χρησιμοποιήσετε εκείνα τα σετ που, μετά από έναν οπτικό έλεγχο, παρουσιάζουν έλλειψη κάποιου αντιδραστηρίου.
4. Τα σετ πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά με τον αναλυτή Chorus, ακολουθώντας σχολαστικά τις Οδηγίες Χρήσης και το Εγχειρίδιο του αναλυτή.
5. Ελέγξτε αν ο αναλυτής Chorus είναι ρυθμισμένος σωστά (βλ. Εγχειρίδιο Χρήσης του Chorus).
6. Μην αλλοιώνετε με κανένα τρόπο το barcode στη λαβή του σετ, ώστε να μπορεί ο αναγνώστης barcode να το διαβάσει σωστά.
7. Αποφύγετε τη χρήση καταψυκτών αυτόματης απόψυξης για την αποθήκευση των δειγμάτων.

8. Τα barcode που δεν διαβάζονται σωστά, μπορείτε να τα περάσετε με το χέρι.
9. Μην εκθέτετε τα σετ σε δυνατό φως ούτε σε υποχλωριώδεις ατμούς κατά τη χρήση ή την αποθήκευσή τους.
10. Μη χρησιμοποιείτε έντονα αιμολυμένα, λιπαιμικά ή ικτερικά δείγματα, ούτε δείγματα που δεν έχουν πήξει εντελώς ή δείγματα που παρουσιάζουν μικροβιακή μόλυνση.
11. Πριν τοποθετήσετε το σετ στον αναλυτή Chorus, βεβαιωθείτε ότι η κυψελίδα αντίδρασης δεν περιέχει ξένα σώματα.
12. Εισάγετε τον ορό που θα αναλυθεί (50 ul) στην κυψελίδα 1 του σετ με σιφώνιο (βλ. εικόνα).
13. Μην χρησιμοποιείτε τα σετ μετά την ημερομηνία λήξης τους.
14. **Βεβαιωθείτε ότι ο αναλυτής είναι συνδεδεμένος με τον Washing Buffer Autoimmunity ΚΩΔ. 86004.**

5. ΣΥΝΘΕΣΗ ΤΟΥ ΚΙΤ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Το kit καλύπτει 36 προσδιορισμούς (REF 86098).

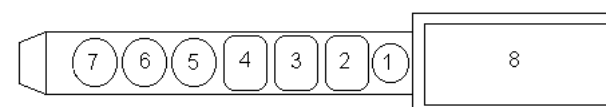
Το kit καλύπτει 12 προσδιορισμούς (REF 86098/12).

DD ΣΕΤ

6 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86098).

2 πακέτα των 6 σετ το κάθε ένα (REF 86098/12).

Περιγραφή:



Θέση 8: Διαθέσιμος χώρος για ετικέτα barcode

Θέση 7: Κενή

Θέση 6: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ

Επικαλυμμένη με ειδικά πεπτίδια απαμιδιωμένης γλιαδίνης

Θέση 5: ΚΥΨΕΛΙΔΑ ΜΙΚΡΟΠΛΑΚΙΔΙΟΥ

Μη επικαλυμμένη.

Θέση 4: ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ TMB

Περιεχόμενο: τετραμεθυλβενζιδίνη 0.26 mg/mL και H₂O₂ 0.01% σταθεροποιημένα σε ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών 0.05 mol/L (pH 3.8)

Θέση 3: ΑΡΑΙΩΤΙΚΟ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Περιεχόμενο: ρυθμιστικό πρωτεϊνικό διάλυμα που εμπεριέχει Proclin

Θέση 2: ΣΥΜΠΛΟΚΟ

Περιεχόμενο: μονοκλωνικά αντισώματα έναντι ανθρώπινων IgA σηματοδοτημένα με υπεροξειδάση, σε ρυθμιστικό διάλυμα

Θέση 1: ΚΕΝΗ ΚΥΨΕΛΙΔΑ

Στην οποία ο χειριστής πρέπει να τοποθετήσει μη αραιωμένο ορό.

Χρήση: Αφήστε μία συσκευασία να ισορροπήσει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, ανοίξτε τη συσκευασία, βγάλτε όσα σετ χρειάζεστε και βάλτε τα υπόλοιπα πίσω στη σακούλα

που περιέχει γέλη πυριτίου, αφαιρέστε τον αέρα και **σφραγίστε την** πιέζοντας το ειδικό σύστημα κλεισίματος. Αποθηκεύστε στους 2/8°C.

CALIBRATOR ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ 1 x 0.175 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός γνωστού τίτλου σε αντισώματα που περιέχει συντηρητικό, υγρός, έτοιμος για χρήση.

CONTROL + ΘΕΤΙΚΟ ΠΡΟΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ 1 x 0.425 mL

Περιεχόμενο: Αραιωμένος ανθρώπινος ορός γνωστού τίτλου σε αντισώματα που περιέχει συντηρητικό, υγρός, έτοιμος για χρήση.

ΑΛΛΟ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟ ΑΛΛΑ ΜΗ ΣΥΝΟΔΕΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ.

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY **REF** 86004
- CLEANING SOLUTION 2000 **REF** 83609
- SANITIZING SOLUTION **REF** 83604 - 83608
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT **REF** 83607
- CHORUS/CHORUS TRIO **REF** 81000-81200
- Αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό
- Στάνταρντ υάλινος εξοπλισμός εργαστηρίου: κύλινδροι, δοκιμαστικοί σωλήνες, κ.λ.π.
- Μικροπιπέτες που αναρροφούν με ακρίβεια όγκους 50-200 µL
- Γάντια μίας χρήσης
- Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5%
- Δοχεία για την απόρριψη των δυνητικά μολυσματικών υλικών.

6. ΤΡΟΠΟΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια πρέπει να αποθηκεύονται στους 2/8°C. Σε περίπτωση που αποθηκεύτηκαν σε λανθασμένη θερμοκρασία, πρέπει να επαναληφθεί η βαθμονόμηση και να ελεγχθεί το αποτέλεσμα με τον ορό ελέγχου (βλ. κεφ. 9: Επικύρωση της δοκιμασίας).

Η ημερομηνία λήξης είναι τυπωμένη σε κάθε επιμέρους στοιχείο και πάνω στην εξωτερική ετικέτα της συσκευασίας.

Τα αντιδραστήρια έχουν περιορισμένη διάρκεια ζωής μετά το άνοιγμα και/ή την προετοιμασία

ΣΕΤ	8 εβδομάδες σε 2/8°C
ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΤΗΣ	8 εβδομάδες σε 2/8°C
ΘΕΤΙΚΟΣ ΟΡΟΣ	8 εβδομάδες σε 2/8°C
ΕΛΕΓΧΟΥ	

7. ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΦΥΛΑΞΗ

Τα δείγματα αποτελούνται από ορό ο οποίος προέρχεται από αίμα που έχει συλλεχθεί με τυπική φλεβοπαρακέντηση και έχει υποβληθεί σε επεξεργασία σύμφωνα με τυπικές εργαστηριακές διαδικασίες. Ο νωπός ορός διατηρείται 4 ημέρες στους 2/8°C.

Εάν απαιτείται μεγαλύτερο χρονικό διάστημα φύλαξης, καταψύξτε τα δείγματα στους -20°C. Το δείγμα μπορεί να αποψυχθεί έως 3 φορές το μέγιστο. Μην φυλάσσετε τα δείγματα σε ψυγεία αυτόματης απόψυξης. Μετά την απόψυξη, ανακινήστε καλά το δείγμα πριν το τοποθετήσετε στις κυψελίδες. Η αδρανοποίηση με θερμότητα μπορεί να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα. Τυχόν μικροβιακή μόλυνση μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την ποιότητα του δείγματος και να δώσει λανθασμένα αποτελέσματα.

8. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

1. Ανοίξτε την συσκευασία (από την πλευρά του κλείστρου με πίεση), πάρτε όσα σετ χρειάζεστε για την ανάλυση και φυλάξτε τα υπόλοιπα κλείνοντας την σακούλα, αφού πρώτα αφαιρέσετε τον αέρα.
2. Ελέγξτε προσεκτικά την κατάσταση του σετ ακολουθώντας τις υποδείξεις που αναφέρονται στο κεφ. 4 Αναλυτικές Οδηγίες,
3. Ρίξτε στην κυψελίδα 1 καθενός σετ, 50 µL μη αραιωμένο ορό για ανάλυση. Σε κάθε αλλαγή παρτίδας, χρησιμοποιήστε ένα σετ για τον βαθμονομητή.
4. Τοποθετήστε τα σετ στον αναλυτή Chorus. Κάνετε την βαθμονόμηση (αν είναι αναγκαίο) και τις δοκιμασίες, ακολουθώντας τις οδηγίες του Εγχειριδίου Χρήσης του αναλυτή.

9. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Χρησιμοποιήστε το θετικό ορό ελέγχου για να επαληθεύσετε την ακρίβεια του ληφθέντος αποτελέσματος, ακολουθώντας τις οδηγίες του εγχειριδίου χρήσης του αναλυτή. Αν ο αναλυτής δείξει ότι η τιμή του ορού ελέγχου βρίσκεται έξω από το αποδεκτό όριο, πρέπει να επαναλάβετε τη βαθμονόμηση. Τα προηγούμενα αποτελέσματα θα διορθωθούν αυτόματα. Αν το αποτέλεσμα του ορού ελέγχου εξακολουθεί να βρίσκεται εκτός των αποδεκτών ορίων, επικοινωνήστε με το Τμήμα Επιστημονικής Υποστήριξης.

Τηλ.: 0039 0577 319554
Φαξ: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Ο αναλυτής Chorus/Chorus TRIO υπολογίζει το αποτέλεσμα με βάση μια καμπύλη (ειδική για κάθε παρτίδα) που είναι αποθηκευμένη στη μνήμη του αναλυτή. Το αποτέλεσμα εκφράζεται σε αυθαίρετες μονάδες (AU/ml).

Τα αποτελέσματα ανάλυσης των δειγμάτων ορού μπορούν να ερμηνευθούν ως εξής:

ΘΕΤΙΚΟ όταν το αποτέλεσμα είναι > 18.0 AU/ml
ΑΡΝΗΤΙΚΟ όταν το αποτέλεσμα είναι < 12.0 AU/ml
ΑΜΦΙΒΟΛΟ/ΑΣΑΦΕΣ όταν το αποτέλεσμα βρίσκεται μεταξύ 12.0 και 18.0 AU/ml

Αν το αποτέλεσμα είναι αμφίβολο, επαναλάβετε τη δοκιμασία. Αν το αποτέλεσμα παραμένει αμφίβολο, επαναλάβετε τη δειγματοληψία.

11. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Όλα τα θετικά αποτελέσματα πρέπει να ερμηνεύονται προσεκτικά.

Η δοκιμασία δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτόνομα για κλινική διάγνωση. Το αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει το ενδεχόμενο να νοσεί ο ασθενής.

Το αποτέλεσμα της δοκιμασίας πρέπει να αξιολογείται σε συνδυασμό με το ιστορικό του ασθενή και/ή άλλες διαγνωστικές εξετάσεις.

12. ΕΥΡΟΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Ευρος Βαθμονομησης 3.0-300 AU/ml.

Για δείγματα >300 AU/ml, επαναλάβετε τη δοκιμασία, προαραιώνοντας το δείγμα με Negative Control Sample Diluent (PF83607- δεν παρέχεται με το κιτ).

13. ΕΥΡΟΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ

Οι αναμενόμενες τιμές στο φυσιολογικό πληθυσμό, οι οποίες προσδιορίστηκαν κατόπιν ανάλυσης 120 δειγμάτων ορού από υγιείς δότες, κυμαίνονται μεταξύ 3.0 και 10.8 AU/ml.

14. ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

Στο πλαίσιο εξωτερικής δοκιμής, υποβλήθηκαν σε δοκιμασία 162 δείγματα με το κιτ DIESSE και με άλλο κιτ του εμπορίου.

Παρακάτω αναφέρονται τα αποτελέσματα της δοκιμής:

		Αναφορά		
		+	-	Σύνολο
Diesse	+	58	1	59
	-	3	100	103
	Σύνολο	61	101	162

Ποσοστό συμφωνίας θετικών αποτελεσμάτων (~διαγνωστική ευαισθησία): 95.1% CI_{95%}: 86.4-98.3

Ποσοστό συμφωνίας αρνητικών αποτελεσμάτων: (~Διαγνωστική ειδικότητα): 99.0% CI_{95%}: 94.6-99.8

15. ΑΚΡΙΒΕΙΑ

Δείγμα	Εντός κύκλου αναλύσεων		Μεταξύ κύκλων αναλύσεων	
	M.T. (AU/ml)	CV%	M.T. (AU/ml)	CV%
1	32.1	4.8	29.0	11.5
2	10.5	12.9	9.5	11.2
3	90.9	7.4	79.2	3.9

Δείγμα	Μεταξύ παρτίδων		Μεταξύ αναλυτών	
	M.T. (AU/ml)	CV%	M.T. (AU/ml)	CV%
1	27.8	11.0	27.8	10.9
2	10.5	12.7	10.3	14.5
3	74.6	7.8	76.3	8.3

16. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Dietrich W et al : 81997) Nat. Med. 3: 797-801.

2. Holtmeier W and Caspary WF (1998) Z. Gastroenterol. 36: 587-597.
3. Caspary WF, Holtmeier W (1999) Deutsches Arzteblatt 96 (36): A-2213-2214.
4. Catassi C. et al (1994) Lancet 343: 200-203.
5. Volta U. et al (2008) Dig Dis Sci 53(6): 1582-1588



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





INSTRUCCIONES DE USO

CHORUS DEAMIDATED GLIADIN-A

Para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgA anti-Gliadina deaminada

Sólo para uso diagnóstico *in vitro*

1. INDICACIONES

Método inmunoenzimático para la determinación semicuantitativa de anticuerpos IgA anti-Gliadina deaminada en suero humano con dispositivo desechable aplicado a los equipos Chorus y Chorus TRIO.

2. INTRODUCCIÓN

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

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

En la segunda mitad de la década de los 2000 se descubrieron los anticuerpos anti-péptidos deaminados de gliadina (DGP): estos anticuerpos reaccionan con péptidos derivados de la digestión de la gliadina y posteriormente deaminados por la tTG. Por lo tanto, los kits para la detección de anticuerpos anti-DGP resultan más sensibles y específicos para el diagnóstico de GSE que los kits clásicos para anticuerpos anti-gliadina. La determinación de anticuerpos de clase IgG es muy importante especialmente para los pacientes que presentan una carencia

de IgA y en los que, por lo tanto, los anticuerpos anti-gliadina deaminada no pueden detectarse mediante la determinación de IgA.

Los anticuerpos anti-Gliadina pueden ser el único marcador serológico en neonatos ya que los anticuerpos anti-tTG y EMA no están presentes a esas edades. En consecuencia, los anticuerpos anti-Gliadina son el marcador serológico más temprano para los pediatras en el diagnóstico de la enfermedad celiaca.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El producto Deamidated Gliadin-A está listo para el uso y sirve para la determinación de los anticuerpos IgA anti-gliadina deaminada en los equipos CHORUS. El test se basa en el método ELISA. El antígeno está unido a la fase sólida. Después de la incubación con suero humano diluido las inmunoglobulinas específicas se unen al antígeno.

Tras varios lavados destinados a eliminar las proteínas que no han reaccionado, se realiza la incubación con el conjugado, compuesto por anticuerpos anti-inmunoglobulinas humanas con peroxidasa de rábano. El conjugado que no se ha unido es eliminado y se añade el sustrato de la peroxidasa. El color azul que se desarrolla es proporcional a la concentración de anticuerpos específicos presentes en el suero en examen.

Los productos desechables contienen todos los reactivos para realizar la prueba cuando se utilizan con los equipos Chorus.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido testados y dieron resultados negativos en métodos aprobados por la FDA para la presencia de HbsAg y de los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-HCV. Dado que ninguna prueba diagnóstica puede ofrecer una completa garantía sobre la ausencia de agentes infecciosos, cualquier material de origen humano debe ser considerado potencialmente infeccioso. Todos los materiales de origen humano deben manipularse según las normas comúnmente adoptadas en la práctica diaria de laboratorio.

Desecho de los residuos: las muestras de suero, los calibradores y las tiras utilizadas se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos, de acuerdo con las disposiciones normativas vigentes.

Informaciones de Salud y Seguridad:

1. No pipetear por vía oral.
2. Usar los guantes desechables y la protección para los ojos al manipular las muestras y durante la prueba.
3. Lavar las manos a fondo después de terminar la prueba.
4. Los reactivos siguientes contienen baja concentración de sustancias dañinas o irritantes:
 - a) El conjugado y los controles contienen fenol
 - b) El sustrato es ácido

Si cualquier reactivo entrara en contacto con la piel u ojos, lavar con agua abundante.

5. Los ácidos neutralizados y otros residuos líquidos se deben desinfectar añadiendo hipoclorito de sodio en un volumen suficiente para obtener una concentración final por lo menos del 1,0%. Se requiere una exposición al hipoclorito de sodio al 1% durante 30 minutos para garantizar una desinfección eficaz.
6. El vertido de materiales potencialmente infecciosos se debe eliminar inmediatamente con papel absorbente y el área contaminada debe ser limpiada, por ejemplo con hipoclorito de sodio al 1,0%, antes de continuar con el trabajo. El hipoclorito de sodio no se debe utilizar en vertidos que contengan ácido antes de que la zona sea limpiada. Todos los materiales utilizados para limpiar vertidos, incluidos los guantes, se deben desechar como residuos potencialmente infecciosos. No autoclavar materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Precauciones analíticas

Poner todos los reactivos y las muestras a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso; utilizar en 60 minutos.

1. **Desechar los dispositivos con sustrato (pocillo 4) de color azul.**
2. Añadiendo la muestra al pocillo, comprobar que esté bien distribuida en el fondo.
3. Comprobar la presencia de los reactivos en el dispositivo y que éste no esté dañado, no utilizar dispositivos en los que falte algún reactivo.
4. Los dispositivos se deben utilizar junto con el equipo Chorus, siguiendo rigurosamente las Instrucciones de Uso y el Manual del Usuario.
5. Comprobar que las opciones del equipo Chorus sean correctas (ver Manual del Usuario Chorus).
6. No modificar el código de barras colocado en la asa del dispositivo a fin de garantizar la lectura correcta.
7. Evitar el uso de congeladores autodescongelantes para la conservación de las muestras.
8. Los códigos de barras dañados se pueden colocar en el equipo manualmente.
9. No exponer los dispositivos a luz intensa ni a humos de hipoclorito durante su conservación y/o uso.
10. No utilizar muestras altamente hemolizadas, lipémicas, ictericas, no coaguladas completamente o que presenten contaminación microbiana.
11. Antes de colocar el dispositivo en el equipo Chorus comprobar que el pocillo de reacción no contenga partículas extrañas.
12. Pipetear el suero (50 µl) en el pocillo 1 del dispositivo (ver dibujo).
13. No utilizar el suero después de la fecha de caducidad.
14. **Comprobar que el aparato esté conectado con la Washing buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. COMPONENTES DEL KIT Y PREPARACIÓN DEL REACTIVO

Reactivos suficientes para 36 determinaciones (REF 86098).

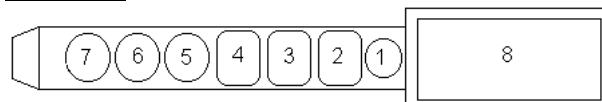
Reactivos suficientes para 12 determinaciones (REF 86098/12).

DISPOSITIVOS

6 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86098).

2 envases con 6 dispositivos cada uno (REF 86098/12).

Descripción:



Posición 8: Espacio para etiqueta con código de barras

Posición 7: Libre

Posición 6: POCILLO DE MICROPLACA

Sensibilizado con péptidos específicos de gliadina deaminada

Posición 5: POCILLO DE MICROPLACA

No sensibilizado.

Posición 4: SISTRATO TMB

Contenido: Tetrametilbencidina 0.26 mg/mL y H₂O₂ 0.01% estabilizados en tampón citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posición 3: DILUYENTE PARA MUESTRAS

Contenido: solución proteica salina con Proclin

Posición 2: CONJUGADO

Contenido: anticuerpos monoclonales anti-IgA humanos marcados con peroxidasa en solución tampón

Posición 1: POCILLO LIBRE

Donde el usuario coloca el suero sin diluir.

Uso: equilibrar un envase a temperatura ambiente, abrir el envase y retirar los dispositivos necesarios; colocar los dispositivos no utilizados en la bolsa de plástico con el gel de sílice, extraer el aire y **cerrar** presionando el cierre. Conservar a 2/8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.175 mL

Contenido: Suero humano diluido a titulación conocida de anticuerpos con conservante. Líquido, listo para su uso.

CONTROL + CONTROL POSITIVO

1 x 0.425 mL

Contenido: Suero humano diluido a titulación conocida de anticuerpos con conservante. Líquido, listo para su uso.

MATERIALES REQUERIDOS NO SUMINISTRADOS

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- CHORUS/CHORUS TRIO (REF 81000-81200)
- Agua destilada o desionizada
- Material de laboratorio: cubetas, tubos de ensayo, etc.
- Micropipetas de precisión para extraer 50-200 µl
- Guantes desechables
- Solución de hipoclorito de sodio (5%)
- Envases para la recogida de materiales potencialmente infecciosos

6. CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben ser conservados a 2/8°C. En caso de una errónea temperatura de conservación, la calibración debe ser repetida y la validez del resultado debe ser verificada por medio del suero de control (ver capítulo 9, Validación de la prueba)

La fecha de caducidad está impresa en cada uno de los componentes y en la etiqueta exterior de la caja.

Los reactivos tienen una estabilidad limitada después de la apertura y/o preparación.

DISPOSITIVOS	8 semanas a 2/8°C
CALIBRADOR	8 semanas a 2/8°C
CONTROL POSITIVO	8 semanas a 2/8°C

7. TIPO DE MUESTRA Y CONSERVACIÓN

La muestra consiste en suero obtenido de sangre extraída de la vena de forma común y debe manipularse siguiendo los procedimientos estándar de laboratorio. El suero fresco puede conservarse a 2/8 °C durante 4 días; si se requieren períodos de conservación más prolongados es necesario congelarlo a – 20 °C. La muestra puede descongelarse hasta un máximo de 3 veces. Evitar el uso de congeladores de desescarche automático. Tras el descongelamiento de la muestra, agitarla con cuidado antes de dosificarla. La inactivación térmica puede dar resultados erróneos. La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana, que conduce a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

1. Abrir el envase (por el lado del cierre a presión), retirar los dispositivos necesarios para ejecutar las pruebas y conservar los otros en el envase, extraer el aire y cerrar presionando el cierre.
2. Comprobar visualmente el estado del dispositivo según las indicaciones del capítulo 4 Precauciones Analíticas.
3. Dispensar 50 µl de suero no diluido en el pocillo n°1 de cada dispositivo, por cada cambio de lote utilizar un dispositivo para el calibrador.
4. Colocar los dispositivos en el equipo Chorus. Ejecutar la calibración (si fuera necesario) y el test según indicaciones del Manual del Usuario Chorus.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBA

Utilizar el suero de control positivo para verificar la validez del resultado obtenido, procesándolo según las indicaciones del manual de uso del equipo. Si el equipo indica que el suero de control tiene un valor fuera de los límites de aceptabilidad, es necesario volver a realizar la calibración. Los resultados anteriores se corregirán automáticamente.

Si el resultado del suero de control continúa estando fuera del rango de aceptabilidad, contactar con Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554

Fax: 0039 0577 366605

email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

El equipo Chorus/Chorus TRIO proporciona un resultado en unidades arbitrarias (AU/ml), calculado en base a un gráfico por lotes guardado en su memoria.

La prueba del suero puede interpretarse de la siguiente manera:

POSITIVO cuando el resultado es > 18.0 AU/ml

NEGATIVO cuando el resultado es < 12.0 AU/ml

DUDOSO/EQUÍVOCO cuando el resultado está comprendido entre 12.0 y 18.0 AU/ml

En caso de resultado dudoso se aconseja repetir la prueba. Si el resultado sigue siendo dudoso, repetir la extracción.

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

Todos los resultados positivos requieren una atenta interpretación.

Esta prueba no debe ser la única para determinar un diagnóstico clínico. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de enfermedad.

El resultado de la prueba debe ser evaluado junto con los datos clínicos del paciente y otros exámenes diagnósticos.

12. RANGO DE CALIBRACIÓN

Rango de calibración 3.0 - 300 AU/ml.

Para las muestras >300AU/ml repetir la prueba diluyéndolas previamente en Negative Control Sample Diluent (PF83607- no incluido en el kit).

13. INTERVALOS DE REFERENCIA

Los valores esperados en la población normal, determinados mediante la prueba de 120 sueros de donantes sanos, oscilaron entre 3.0 y 10.8 AU/ml.

14. SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DIAGNÓSTICA

En una prueba se analizaron 162 muestras con el kit Diesse y con otro kit comercial.

A continuación se indican los datos de la prueba:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	58	1	59
	-	3	100	103
	Total	61	101	162

Percent Positive Agreement (~Sensibilidad de Diagnóstico):

95.1% CI_{95%}: 86.4-98.3

Percent Negative Agreement (~Especificidad de Diagnóstico):

99.0% CI_{95%}: 94.6-99.8

15. PRECISIÓN

Muestra	Intra-Ensayo		Entre ensayos	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	32.1	4.8	29.0	11.5
2	10.5	12.9	9.5	11.2
3	90.9	7.4	79.2	3.9

Muestra	Entre lotes		Entre equipos	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	27.8	11.0	27.8	10.9
2	10.5	12.7	10.3	14.5
3	74.6	7.8	76.3	8.3

16. BIBLIOGRAFÍA

1. Dietrich W et al : 81997) Nat. Med. 3: 797-801.
2. Holtmeier W and Caspary WF (1998) Z. Gastroenterol. 36: 587-597.
3. Caspary WF, Holtmeier W (1999) Deutsches Arzteblatt 96 (36): A-2213-2214.
4. Catassi C. et al (1994) Lancet 343: 200-203.
5. Volta U. et al (2008) Dig Dis Sci 53(6): 1582-1588



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

CHORUS DEAMIDATED GLIADIN-A

Pour la détermination semi-quantitative des anticorps IgA anti-Gliadine désaminée

Uniquement pour diagnostic *in vitro*

1. UTILISATION

Méthode immuno-enzymatique pour la détermination semi-quantitative des anticorps IgA anti-Gliadine désaminée dans le sérum humain grâce à un dispositif à usage unique appliqué sur les instruments Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUCTION

L'entéropathie sensible au gluten (GSE) ou maladie cœliaque est caractérisée par une atrophie des villosités intestinales avec aplatissement consécutif de la muqueuse. La cause de cette maladie est une intolérance pathologique envers la gliadine. La gliadine est la fraction soluble dans l'alcool du gluten, un composant du froment, du seigle et de l'orge.

La maladie cœliaque est provoquée par l'ingestion de gluten. Comme thérapie, il faut observer toute la vie un régime sans gluten, car les symptômes peuvent toujours réapparaître en cas de nouvelle absorption de gluten. La maladie cœliaque est associée au HLA et environ 95% des patients cœliaques présente le DQ2 codifié par DQA1*0501 et DQB1*0201. La maladie peut se manifester à tout âge, plus fréquemment cependant dans la petite enfance, en partie déjà chez les nouveau-nés. En Europe, l'incidence a une gamme comprise entre 1/4000-1/300.

Le diagnostic définitif, avec détermination de la muqueuse plate typique, est réalisé à travers une biopsie de l'intestin grêle accompagnée de marqueurs sérologiques. Les anticorps anti-gliadine et anti-transglutaminase tissulaire (tTG) sont dans ce cas particulièrement importants. La tTG a été identifiée comme l'antigène cible des EMA. Les EMA sont des anticorps qui se lient à l'endomysium, un composant extra-cellulaire des muscles lisses et leur détermination au travers du test par immunofluorescence indirecte (IFT) a été jusqu'à présent un instrument important dans le diagnostic de la maladie cœliaque.

Les anticorps anti-peptides désaminés de la gliadine (DGP) ont été découverts au cours de la deuxième moitié des années 2000 : ces anticorps réagissent avec les peptides dérivés de la digestion de la gliadine et sont successivement désaminés par la tTG. Les kits pour la détection des anticorps anti-DGP sont donc plus sensibles et plus spécifiques pour le diagnostic des GSE que les kits classiques pour les anticorps anti gliadine.

La détermination d'anticorps de cette classe IgG est très importante surtout pour les patients présentant un déficit en IgA et chez lesquels, par conséquent, les anticorps anti-gliadine désaminée ne peut pas être détectés par le dosage des IgA.

Chez les nouveau-nés, la détermination des anticorps anti-gliadine est très importante cliniquement, car à ce stade ne sont pas encore présents les auto-anticorps anti-tTG ou EMA. La gliadine représente donc en pédiatrie le premier paramètre sérologique pour le diagnostic de la maladie cœliaque.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le dispositif Deamidated Gliadin-A est prêt à l'emploi pour la détermination des anticorps IgA anti-Gliadine désaminée, avec les instruments CHORUS. Le dosage est de type ELISA. L'antigène est lié à la phase solide. Les immunoglobulines spécifiques se lient à l'antigène après incubation en présence de sérum humain dilué.

Après élimination des protéines non réactives par lavage, le conjugué constitué d'anticorps anti-immunoglobulines humaines conjuguées à la peroxydase de raifort est incubé. Le conjugué non lié est éliminé et le substrat de la peroxydase est ajouté. La coloration bleue qui se développe est proportionnelle à la concentration des anticorps spécifiques présents dans le sérum examiné.

Les dispositifs à usage unique contiennent tous les réactifs nécessaires à l'exécution du dosage lorsqu'appliqués sur les instruments Chorus.

4. PRECAUTIONS

UNIQUEMENT POUR DIAGNOSTIC *IN VITRO*.

Ce coffret contient des matériaux d'origine humaine qui ont été contrôlés et trouvés négatifs à la suite de l'exécution de tests approuvés par la FDA, tant pour le recherche de HbsAg que pour celles des anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC. Étant donné qu'aucun test diagnostic ne peut offrir une garantie absolue quant à l'absence d'agents infectieux, tout matériel d'origine humaine doit être considéré comme étant potentiellement infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être maniés conformément aux normes de sécurité normalement adoptées par les laboratoires.

Mise au rebut des résidus : les échantillons de sérum, les calibreurs et les bains utilisés doivent être traités comme étant des résidus infectés. Ils doivent donc être éliminés conformément aux réglementations légales en vigueur.

Avertissements pour la sécurité personnelle

16. Ne pas pipeter avec la bouche.
17. Utiliser des gants à jeter et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et durant l'essai.
18. Se laver soigneusement les mains une fois le test terminé.
19. Les réactifs suivants contiennent de faibles concentrations en substances nocives ou irritantes :
 - c) Le conjugué et les contrôles contiennent du phénol
 - d) Le substrat est acide.

Si un réactif entre en contact avec la peau ou avec les yeux, les laver à grande eau.

20. Les acides neutralisés et les déchets liquides doivent être décontaminés avec un volume suffisant de solution d'hypochlorite de sodium pour que la concentration finale soit de 1 % minimum. Un contact de 30 minutes avec cette solution est nécessaire pour garantir une décontamination efficace.
21. En cas de renversement accidentel de matériaux potentiellement infectés, essuyer immédiatement avec du papier absorbant ; la zone contaminée devra être décontaminée avec, par exemple, de l'hypochlorite de sodium (1 %), avant de continuer le travail. En présence d'un acide, veiller à bien essuyer le plan de travail avant d'utiliser de l'hypochlorite de sodium. Tout matériel (notamment les gants) utilisé pour décontaminer les zones salies par d'éventuels renversements accidentels, doit être considéré comme potentiellement infecté et éliminé. Ne pas mettre en autoclave de matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Précautions analytiques

Avant usage, laisser les dispositifs à utiliser à température ambiante (+18-30 °C) et utiliser dans les 60 minutes.

15. **Éliminer les dispositifs avec le substrat (puits 4) coloré de bleu.**
16. S'assurer que l'échantillon soit parfaitement distribué sur le fond lorsqu'il est déposé dans le puit.
17. Contrôler la présence effective des réactifs dans le dispositif et l'intégrité du dispositif. Ne pas utiliser les dispositifs qui, au contrôle visuel, manquent d'un quelconque réactif.
18. Les dispositifs doivent être utilisés avec l'instrument Chorus, en suivant attentivement les instructions pour l'usage et le Manuel de l'instrument.
19. S'assurer que l'instrument Chorus soit réglé comme il se doit (voir le Manuel d'utilisation Chorus).
20. Ne pas modifier le code à barres situé sur la poignée du dispositif à fin que l'instrument puisse le lire correctement.
21. Éviter l'utilisation de congélateurs auto-dégivrants pour conserver les échantillons.
22. Les codes à barres défectueux peuvent être insérés manuellement dans l'instrument.
23. Ne pas exposer les dispositifs à une forte illumination ni aux vapeurs d'hypochlorite pendant la conservation et l'usage.
24. Ne pas utiliser les échantillons fortement hémolysés, lipémiques, ictériques, pas totalement coagulés ou les échantillons présentant une contamination microbienne.
25. Avant d'insérer le dispositif dans l'instrument Chorus, contrôler que le puits de réaction ne contient pas de corps étrangers.
26. Pipeter le sérum examiné (50 µl) dans le puits 1 du dispositif (voir la figure).
27. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
28. **Contrôler si l'instrument a la connexion avec la Washing Buffer Autoimmunity REF 86004.**

5. COMPOSITION DU COFFRET ET PREPARATION DES REACTIFS

Le coffret suffit pour réaliser 36 déterminations (REF 86098).

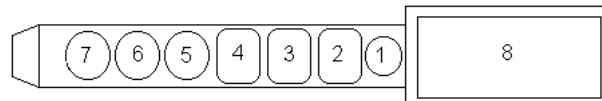
Le coffret suffit pour réaliser 12 déterminations (REF 86098/12).

DISPOSITIFS

6 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86098).

2 emballages contenant 6 dispositifs chacun (REF 86098/12).

Description:



Position 8 : Emplacement de l'étiquette pour le code à barres

Position 7 : Vide

Position 6 : PUIT DE LA MICROPLAQUE

Sensibilisé avec des peptides spécifiques de la gliadine désamidée

Position 5 : PUIT DE LA MICROPLAQUE

Non recouvert.

Position 4 : SUBSTRAT TMB

Contenu : Tétraméthylbenzidine 0.26 mg/mL et H₂O₂ 0.01% stabilisée en tampon citrate 0.05 mmol/L (pH 3.8)

Position 3 : DILUANT POUR ÉCHANTILLON

Contenu : solution saline protéique contenant du Proclin

Position 2 : CONJUGUÉ

Contenu : anticorps monoclonaux anti-IgG humaines marqués à la peroxydase dans une solution tamponnée

Position 1 : PUIT VIDE

L'utilisateur doit y mettre le sérum non dilué.

Usage : équilibrer un sachet à température ambiante, ouvrir le sachet, sortir les dispositifs nécessaires, et placer les autres non utilisés dans le sachet en plastique avec le gel de silice; chasser l'air et **fermer** le sachet par pression sur la fermeture. Conserver à 2-8 °C.

CALIBRATOR CALIBRATEUR

1 x 0.175 mL

Contenu : Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant un agent conservateur. Liquide prêt à l'emploi.

CONTROL + CONTRÔLE POSITIF

1 x 0.425 mL

Contenu : Sérum humain dilué, à une concentration connue d'anticorps, contenant un agent conservateur. Liquide prêt à l'emploi.

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 – 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- CHORUS/CHORUS TRIO (REF 81000-81200)

- Eau distillée ou déionisée
- Instruments de laboratoire en verre normaux : cylindres, éprouvettes, etc.
- Micropipettes capables de prélever de façon précise des volumes de 50-200 µL
- Gants à jeter
- Solution à 5 % d'hypochlorite de sodium
- Récipients pour les matériaux potentiellement infectés.

6. MODALITÉS DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à +2-8 °C. En cas de température de conservation incorrecte, il faut refaire le calibrage et contrôler l'exactitude du résultat en recourant au sérum de contrôle (voir section 9 : validation du test).

La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette apposée sur l'emballage.

Les réactifs ont une stabilité limitée après ouverture et/ou préparation:

DISPOSITIFS	8 semaines à 2/8 °C
CALIBRATEUR	8 semaines à 2/8 °C
CONTROLE POSITIF	8 semaines à 2/8 °C

22. TYPE D'ÉCHANTILLONS ET CONSERVATION

Les échantillons sont des sérums préparés à partir de prélèvements sanguins obtenus par ponction veineuse et préparés selon les procédures standards de laboratoire. Le sérum frais peut être maintenu pendant 4 jours à 2/8 °C ; pour une plus longue période de conservation, il doit être congelé à -20 °C. L'échantillon peut subir au plus 3 cycles de congélation/décongélation. Éviter l'emploi de congélateurs auto-dégivrants pour la conservation des échantillons. Après décongélation, agiter soigneusement l'échantillon avant le dosage. L'inactivation par chaleur peut induire de faux résultats. La qualité de l'échantillon peut être fortement compromise par la présence de contamination microbienne qui peut induire de faux résultats.

8. PROCÉDURE

1. Ouvrir le sachet (du côté contenant la fermeture à pression), et sortir le nombre de dispositifs nécessaires et conserver les autres dans le sachet après avoir chassé l'air.
2. Contrôler visuellement l'état du dispositif selon les indications reportées au paragraphe 4 : « Précautions analytiques ».
3. Dispenser 50 µl de sérum non dilué dans le puits no. 1 de chaque dispositif à analyser ; utiliser un dispositif pour le calibrateur à chaque changement de lot.
4. Introduire les dispositifs dans l'instrument Chorus. Effectuer le calibrage (si nécessaire) et le test selon les indications du Manuel d'Instruction de l'instrument.

9. VALIDATION DU DOSAGE

Utiliser le sérum « contrôle positif » pour vérifier l'exactitude du résultat obtenu, le dosant comme indiqué dans le manuel d'utilisation de l'instrument. Si l'instrument indique que le sérum de contrôle a une valeur en dehors de la limite de tolérance, il est nécessaire d'effectuer à nouveau la calibration. Les résultats précédents seront automatiquement corrigés.

Si le résultat du sérum de contrôle n'est toujours pas compris dans la plage d'acceptabilité, contacter le Scientific Support.

Tél. : 0039 0577 319554

Fax : 0039 0577 366605

e-mail : scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU DOSAGE

L'instrument Chorus/Chorus TRIO fournit un résultat en unité arbitraire (AU/mL), calculé sur la base d'un graphique lot-dépendant mémorisé dans l'instrument.

Le dosage du sérum examiné peut être interprété comme suit :

POSITIF lorsque le résultat est >18.0 AU/mL

NÉGATIF lorsque le résultat est <12.0 AU/mL

DOUTEUX/ÉQUIVOQUE lorsque le résultat est compris entre 12.0 et 18.0 AU/mL.

En cas de résultat douteux, répéter le dosage. Si le résultat reste douteux, répéter le prélèvement.

11. LIMITES DU DOSAGE

Tous les résultats positifs nécessitent une interprétation attentive.

Le seul dosage ne suffit pas pour un diagnostic clinique. Un résultat négatif n'exclut pas la présence éventuelle de maladie.

Le résultat du dosage doit être évalué avec les données provenant de l'anamnèse du patient et/ou les autres analyses de diagnostic.

12. PLAGE D'ÉTALONNAGE

Plage d'Etalonnage 3.0 - 300 AU/mL

Pour les échantillons >300 AU/mL, répéter le dosage en pré-diluant l'échantillon dans Negative Control Sample Diluent (PF83607- non fourni avec le kit).

13. INTERVALLES DE RÉFÉRENCE

Les valeurs attendues dans la population normale, déterminées après examen de 120 sérums provenant de donateurs sains, sont comprises entre 3.0 et 10.8 AU/mL.

14. SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ DIAGNOSTIQUE

Lors d'une étude, 162 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit commercial.

Les résultats de l'étude sont résumés ci-dessous :

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	58	1	59
	-	3	100	103
	Total	61	101	162

Percent Positive Agreement (~Sensibilité Diagnostique) :

95.1% CI_{95%}: 86.4-98.3

Percent Negative Agreement : (~Spécificité Diagnostique) :

99.0% CI_{95%}: 94.6-99.8

29. PRÉCISION

Échantillon	Au sein du dosage		Entre les dosages	
	Moyenne (AU/mL)	CV %	Moyenne (AU/mL)	CV %
1	32.1	4.8	29.0	11.5
2	10.5	12.9	9.5	11.2
3	90.9	7.4	79.2	3.9

Échantillon	Entre lots		Entre instruments	
	Moyenne (AU/mL)	CV %	Moyenne (AU/mL)	CV %
1	27.8	11.0	27.8	10.9
2	10.5	12.7	10.3	14.5
3	74.6	7.8	76.3	8.3

16. BIBLIOGRAPHIE

6. Dietrich W et al : 81997) Nat. Med. 3: 797-801.
7. Holtmeier W and Caspary WF (1998) Z. Gastroenterol. 36: 587-597.
8. Caspary WF, Holtmeier W (1999) Deutsches Arzteblatt 96 (36): A-2213-2214.
9. Catassi C. et al (1994) Lancet 343: 200-203.
10. Volta U. et al (2008) Dig Dis Sci 53(6): 1582-1588



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO

CHORUS DEAMIDATED GLIADIN-A

Para a determinação semi-quantitativa dos anticorpos IgA anti-Gliadina desamidada

Apenas para uso de diagnóstico *in vitro*

1. UTILIZAÇÃO

Método imunoenzimático para a determinação semi-quantitativa dos anticorpos IgA anti-Gliadina desamidada no soro humano, com dispositivo descartável aplicado aos instrumentos Chorus e Chorus TRIO.

2. INTRODUÇÃO

A enteropatia sensível ao glúten (GSE) ou Celiaquia é caracterizada por uma atrofia das vilosidades intestinais com o consequente alisamento da mucosa. A causa desta doença é uma intolerância patológica em relação à gliadina. A gliadina é a fracção solúvel em álcool do glúten, um componente do trigo, do centeio e da cevada.

A Celiaquia é provocada pela assunção de glúten. Como terapia é necessário respeitar, por toda a vida, uma dieta sem glúten, pois os sintomas podem sempre reaparecer em caso de assunção de glúten. A Celiaquia é associada a HLA e aproximadamente 95% dos pacientes celiacos apresenta o DQ2 codificado por DQA1*0501 e DQB1*0201. A doença pode manifestar-se em todas as faixas de idade, todavia é mais frequente na primeira infância, parcialmente já nos recém-nascidos. Na Europa a incidência tem um intervalo entre 1/4000 e 1/300.

O diagnóstico definitivo, com determinação da típica mucosa lisa, é efectuado por meio de biopsia do intestino delgado acompanhada por marcadores serológicos. Neste caso são muito importantes os anticorpos anti-gliadina e anti-transglutaminase tecidual (tTG). A tTG foi identificada como o antígeno meta dos EMA. Os EMA são anticorpos que se ligam ao endomísio, um componente extracelular da musculatura lisa e a sua determinação através do teste indirecto por imunofluorescência (IFT) foi até agora um instrumento importante para o diagnóstico da Celiaquia.

Na segunda metade da primeira década de 2000 foram descobertos anticorpos anti-peptídeos desamidados da gliadina (DGP): estes anticorpos reagem com peptídeos derivados da digestão de gliadina e, posteriormente, desamidados por tTg. Os kits para a detecção de anticorpos anti-DGP são, portanto, mais sensíveis e mais específicos para o diagnóstico de GSE em comparação com os kits tradicionais para os anticorpos anti-gliadina.

A determinação de anticorpos da classe IgG é muito importante, especialmente para os doentes que têm um défice de IgA e em quem, portanto, os anticorpos anti-gliadina desamidados não podem ser detetados através da determinação de IgA.

Nos recém-nascidos, a determinação de anticorpos anti-gliadina é clinicamente importante, pois nesta fase ainda não estão presentes auto-anticorpos anti-tTG ou EMA. Portanto, a gliadina representa, em pediatria, o primeiro parâmetro serológico para o diagnóstico da Celiaquia.

3. PRINCÍPIO DO MÉTODO

O dispositivo Deamidated Gliadin-A está pronto a ser usado para a determinação dos anticorpos IgA anti-Gliadina desamidada, nos instrumentos CHORUS. O teste baseia-se no princípio ELISA. O antígeno liga-se na fase sólida. As imunoglobulinas específicas ligam-se ao antígeno após a incubação com soro humano diluído.

Após lavagens para eliminar as proteínas que não reagiram, efectua-se a incubação com o conjugado constituído de anticorpos anti-imunoglobulina humanos, conjugados com peroxidase de rábano. Elimina-se o conjugado que não se ligou e se adiciona o substrato para a peroxidase. A cor azul criada é proporcional à concentração dos anticorpos específicos presentes no soro em exame.

Os dispositivos descartáveis contêm todos os reagentes para realizar o teste quando aplicados nos instrumentos Chorus.

4. PRECAUÇÕES

SOMENTE PARA USO DIAGNÓSTICO *IN VITRO*.

Este kit contém materiais de origem humana que foram testados com testes aprovados pela FDA e encontrados negativos para A presença de HBsAg, anticorpos anti-HIV-1, anti HIV-2 e anti-HCV. De qualquer modo, nenhum teste diagnóstico garante a ausência dos agentes infecciosos, todos os materiais de origem humana precisam ser considerados potencialmente infecciosos. Todos os reagentes e as amostras devem ser manuseados conforme as regras de segurança definidas em cada laboratório.

Eliminação de resíduos: as amostras de soro, os calibradores e as tiras usadas devem ser tratadas como resíduos infectados e, portanto, devem ser eliminados de acordo com as disposições de lei em vigor.

Precauções para a segurança individual

1. Não pipetar com a boca.
2. Usar luvas descartáveis e uma protecção para os olhos quando manusear as amostras e durante o teste.
3. Lavar muito bem as mãos no final do teste.
4. Os seguintes reagentes contêm baixas concentrações de substâncias perigosas ou irritantes:
 - a) O conjugado e os controlos contêm fenol
 - b) O substrato é ácido

Em caso de contacto desses reagentes com os olhos e a pele, lavar abundantemente com água.

5. Os ácidos neutralizados e os outros resíduos líquidos devem ser desinfetados adicionando um volume de hipoclorito de sódio suficiente para obter uma concentração final pelo menos de 1%. A exposição ao hipoclorito de sódio a 1% durante 30 minutos deverá ser suficiente para garantir uma desinfecção eficaz.
6. Eventuais derramamentos de materiais potencialmente infecciosos devem ser absorvidos imediatamente com papel absorvente e a área afectada deverá ser descontaminada, por exemplo com hipoclorito de sódio a 1%, antes de continuar o trabalho. Se estiver presente um ácido, o hipoclorito de sódio não pode ser usado antes de enxugar a área. Todos os materiais usados para descontaminar eventuais derramamentos acidentais, incluindo as luvas, devem ser eliminados como lixo potencialmente infeccioso. Não esterilizar na autoclave materiais contendo hipoclorito de sódio.

Precauções analíticas

Antes do uso, deixar que os dispositivos a utilizar se estabilizem à temperatura ambiente (18 a 30°C) e utilizar no prazo de 60 minutos.

1. **Deitar fora os dispositivos com substrato (poço 4) azul.**
2. Adicionando a amostra ao poço verifique se está distribuído perfeitamente no fundo.
3. Controlar a presença dos reagentes nas cavidades do dispositivo e a integridade do dispositivo mesmo; não usar dispositivos que, ao controle visual, faltam alguns reagentes.
4. Os dispositivos devem ser utilizados exclusivamente com o instrumento Chorus, seguindo rigorosamente as Instruções de Utilização e o Manual do instrumento.
5. Controlar que o instrumento Chorus esteja programado correctamente (ver o Manual de Utilização Chorus).
6. Não alterar o código de barras no punho do dispositivo, permitindo uma correcta leitura pelo equipamento.
7. Evitar o uso de congeladores No Frost para a conservação das amostras.
8. Códigos de barras com defeitos podem ser inseridos manualmente no instrumento.
9. Durante o uso e a conservação, não expor os dispositivos a forte luz ou a vapores de hipoclorito.
10. Não usar amostras fortemente hemolisadas, lipémicas, ictericas, não coaguladas completamente ou amostras com contaminação bacteriana.
11. Antes de inserir o dispositivo no instrumento Chorus, verificar que o poço de reacção não contenha corpos estranhos.
12. Pipetar o soro em teste (50 µL) no poço 1 do dispositivo (ver a figura).
13. Não usar o dispositivo depois da data de validade.
14. **Verificar se o instrumento tem a ligação ao Washing Buffer Autoimmunity (REF 86004).**

5. COMPOSIÇÃO DO KIT E PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

O kit é suficiente para 36 determinações (REF 86098).

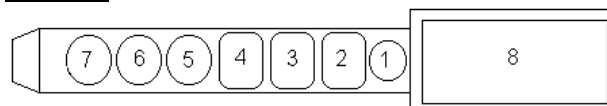
O kit é suficiente para 12 determinações (REF 86098/12).

DD DISPOSITIVOS

6 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86098).

2 embalagens de 6 dispositivos cada (REF 86098/12).

Descrição:



Posição 8: Espaço disponível para rótulo com código de barras

Posição 7: Vazia

Posição 6: RESERVATÓRIO DE MICRO-CHAPA

Sensibilizado com peptídeos específicos de gliadina desamidada

Posição 5: RESERVATÓRIO DE MICRO-CHAPA

Não sensibilizado.

Posição 4: SUBTRACTO TMB

Conteúdo: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL ed H₂O₂ 0.01% estabilizados em tampão citrato 0.05 mol/L (pH 3.8)

Posição 3: DILUENTE PARA AS AMOSTRAS

Conteúdo: solução proteica salina com Proclin

Posição 2: CONJUGADO

Conteúdo: anticorpos monoclonais anti-IgA humanos marcados com peroxidase, em solução tampão

Posição 1: RESERVATÓRIO VAZIO

Onde o utilizador deve eliminar o soro não diluído.

Uso: estabilizar um pacote à temperatura ambiente. abrir o pacote, retirar os dispositivos necessários; colocar os restantes no pacote com o gel de sílica, esvaziar o ar e **fechar** o pacote premindo o fecho. Conservar entre 2 e 8°C.

CALIBRATOR CALIBRADOR

1 x 0.175 mL

Conteúdo: Soro humano diluído, de concentração conhecida de anticorpos com conservante. Líquido, pronto a usar.

CONTROL + CONTROLO POSITIVO

1 x 0.425 mL

Conteúdo: Soro humano diluído, com concentração conhecida de anticorpos, com conservante. Líquido, pronto a usar.

OUTROS MATERIAIS NECESSÁRIOS, MAS NÃO FORNECIDOS.

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83609)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604 - 83608)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- CHORUS/CHORUS TRIO (REF 81000 - 81200)
- Água destilada ou desionizada
- Vidros normais de laboratório: cilindros, provetas, etc.

- Micropipetas com capacidade para recolher com precisão volumes de 50 a 200 µL
- Luvas descartáveis
- Solução de hipoclorito de sódio a 5%
- Recipientes para a recolha de materiais potencialmente infecciosos

6. CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE DOS REAGENTES

Os reagentes devem ser conservados entre 2 e 8°C. Em caso de temperatura de conservação errada, é necessário refazer a calibração e verificar a exactidão do resultado por meio do soro de controlo (consultar o capítulo 9 - Validação do teste).

data de validade está impressa em cada componente e no rótulo externo da embalagem.

Os reagentes têm uma estabilidade limitada depois da abertura e/ou da preparação:

DISPOSITIVOS	8 semanas entre 2 e 8°C
CALIBRADOR	8 semanas entre 2 e 8°C
CONTROLO POSITIVO	8 semanas entre 2 e 8°C

7. TIPO DE AMOSTRAS E CONSERVAÇÃO

O tipo de amostra é representado pelo soro obtido do sangue colhido por punção normal de veia e manuseado como exigido nos procedimentos padrão de laboratório. O soro fresco pode ser conservado por 4 dias a 2/8°C; para períodos de conservação mais longos, congelar a -20°C. A amostra pode sofrer até um máximo de 3 descongelações. Evitar o uso de congeladores auto-descongelantes para a conservação das amostras. Após a descongelação, agitar com cuidado a amostra antes da dosagem. A inactivação ao calor pode fornecer resultados incorrectos. A qualidade da amostra pode ser seriamente influenciada pela contaminação microbiana, o que poderá induzir a resultados incorrectos.

8. PROCEDIMENTO DO TESTE

1. Abrir o pacote (do lado da fechadura por pressão), retirar o número de dispositivos necessários para os testes e conservar os restantes no pacote, esvaziar o ar e fechar o pacote.
2. Controlar visualmente as condições do dispositivo de acordo com as indicações do capítulo 4, "Precauções Analíticas".
3. Distribuir no poço 1 de cada dispositivo 50 µl de soro não diluído a testar; em cada mudança de lote utilizar um dispositivo para o calibrador.
4. Inserir o dispositivo no instrumento Chorus. Realizar a calibração (se necessário) e o teste como definido no Manual do Instruções do instrumento.

9. VALIDAÇÃO DO TESTE

Utilizar o soro de controlo positivo para verificar a precisão do resultado obtido, processando-o como indicado no manual de utilização do instrumento. Se o instrumento assinalar que o

soro de controlo apresenta um valor fora dos limites de aceitabilidade, deve ser efectuada nova calibração. Os resultados seguintes serão corrigidos automaticamente. Se o resultado do soro de controlo continuar fora do intervalo de aceitação, contactar il Scientific Support.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAÇÃO DO TESTE

O instrumento Chorus/Chorus TRIO fornece um resultado em unidade arbitrária (AU/ml) calculada com base num gráfico relacionado ao lote, memorizado no instrumento.

O teste do soro em exame pode ser interpretado como seguinte:

POSITIVO quando o resultado for > 18.0 AU/ml
NEGATIVO quando o resultado for > 12.0 AU/ml
INCERTO/EQUIVOCADO quando o resultado estiver compreendido entre 12.0 e 18.0 AU/ml

Em caso de resultado duvidoso, repetir o teste. Se o resultado permanecer duvidoso, repetir a colheita.

11. LIMITAÇÕES DO TESTE

Todos os resultados positivos necessitam de uma interpretação cuidadosa.

O teste não pode ser utilizado isoladamente para um diagnóstico clínico. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de doença.

O resultado do teste deve ser avaliado junto com dados provenientes da anamnese do paciente e/ou outras investigações diagnósticas.

12. INTERVALO DE CALIBRAÇÃO

Intervalo de calibração 3.0-300 AU/ml.

Para amostras >300 AU/ml repetir o teste pré-diluindo a amostra em Negative Control Sample Diluent (PF83607- não fornecido com o kit).

13. INTERVALOS DE REFERÊNCIA

Os valores esperados na população normal, determinados examinando 120 soros de doadores sãos, estavam compreendidos entre 3.0 e 10.8 AU/ml.

14. SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE DIAGNÓSTICA

Numa experimentação foram analisadas 162 amostras com kit Diesse e com outro kit da concorrência.

A seguir, estão esquematizados os dados da experimentação:

		Referência		
		+	-	Total
Diesse	+	58	1	59
	-	3	100	103
	Total	61	101	162

Percent Positive Agreement (~Sensibilidade Diagnóstica):

95.1% CI_{95%}: 86.4-98.3

Percent Negative Agreement: (~Especificidade Diagnóstica):

99.0% CI_{95%}: 94.6-99.8

15. PRECISÃO

Amostra	Dentro da sessão		Entre sessões	
	Média (AU/ml)	CV%	Média (AU/ml)	CV%
1	32.1	4.8	29.0	11.5
2	10.5	12.9	9.5	11.2
3	90.9	7.4	79.2	3.9

Amostra	Entre lotes		Entre instrumentos	
	Média (AU/ml)	CV%	Média (AU/ml)	CV%
1	27.8	11.0	27.8	10.9
2	10.5	12.7	10.3	14.5
3	74.6	7.8	76.3	8.3

16. BIBLIOGRAFIA

1. Dietrich W et al : 81997) Nat. Med. 3: 797-801.
2. Holtmeier W and Caspary WF (1998) Z. Gastroenterol. 36: 587-597.
3. Caspary WF, Holtmeier W (1999) Deutsches Arzteblatt 96 (36): A-2213-2214.
4. Catassi C. et al (1994) Lancet 343: 200-203.
5. Volta U. et al (2008) Dig Dis Sci 53(6): 1582-1588



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy





INSTRUCTIUNI DE UTILIZARE

CHORUS DEAMIDATED GLIADIN-A

Pentru determinarea semicantitativa a anticorpilor IgA impotriva Gliadin diamida

Destinat numai pentru Diagnosticarea *In Vitro*

1. UTILIZARE RECOMANDATA

Metoda imunoenzimatica pentru determinarea semicantitativa a anticorpilor IgA impotriva Gliadin diamida in seruri umane, folosind un instrument de unica folosinta pe instrumentele CHORUS si CHORUS TRIO.

2. INTRODUCERE

Enteropatia gluten-sensibila sau boala celiaca este caracterizata prin atrofierea vilozitatilor intestinului subtire ducand la asa numita mucoasa plata. Este cauzata de intoleranta patologica la Gliadina, fractia alcool-solubila a glutenului in grau, orz, si secara. Boala celiaca este cauzata de captarea glutenului, prin urmare o dieta fara gluten vindeca complet boala si aceasta dieta trebuie pastrata intreaga viata. Consumul de Gliadina duce la o reintoarcere a simptomelor. Boala este asociata cu HLA (>95% din pacienti au DQ2 codat prin DQA1*0501 si DQB1*0201) si se manifesta la orice varsta, mai cu seama in copilaria timpurie, chiar si la nou nascuti. Incidenta variaza de la 1 la 4000 si de la 1 la 300 in tarile europene.

Diagnosticarea bolii celiace este efectuata prin biopsia intestinului subtire (demonstrand mucoasa plata) sustinuta de markerii serologici. Anticorpii anti Gliadin si a tesutului Transglutaminase (tTG) au o semnificatie majora. tTG a fost identificat ca fiind o tinta majora a anticorpilor EMA care se leaga la endomisium (constituent extracelular al muschiului neted) in testul de imunofluorescenta indirecta (IFT), care pana acum a fost o unealta importanta in diagnosticarea bolii celiace.

In partea a doua a anilor 2000 au fost descoperiti anticorpii anti-gliadina peptide deamidate (DGP): acești anticorpi reactioneaza cu peptide derivate din digestia gliadina si deamidata ulterior de TTG. Kiturile pentru detectarea anticorpilor anti-DGP, prin urmare, sunt mai sensibile si mai exacte pentru diagnosticarea GSE comparativ cu kiturile clasice pentru anticorpi anti-gliadina.

Determinarea anticorpilor din clasa IgG este foarte importanta in special pentru pacientii care au un deficit de IgA si la care, prin urmare, anticorpii anti-gliadina deamidata nu pot fi detectati prin determinarea IgA.

Anticorpii anti Gliadin pot fi singurii markeri serologici la nou nascuti, deoarece autoanticorpii anti-tTG si EMA nu sunt prezenti la aceasta varsta. Anticorpii anti-Gliadin sunt markerii timpurii serologici pentru pediatri la diagnosticarea bolii celiace.

3. PRINCIPIUL METODEI

Dispozitivele Gliadin-A Diamida sunt gata de utilizare pentru testarea anticorpilor IgA impotriva Gliadin diamida pe instrumentele CHORUS. Testul are la baza metoda ELISA (Enzyme linked Immunosorbent Assay).

Antigenul este legat de faza solida. Imunoglobulinele specifice sunt legate de antigen prin incubare cu ser uman diluat.

Dupa spalare, pentru a elimina proteinele care nu au participat la reactie se efectueaza incubarea cu conjugatul, compus din imunoglobuline anti-umane conjugate cu peroxidaza din hrean. Conjugatul nelegat este eliminat si se adauga substratul de peroxidaza.

Culoarea albastra care se dezvolta este proportionala cu concentratia de anticorpi specifici prezenti in proba de ser.

Dispozitivele de unica folosinta contin toti reactivii pentru efectuarea testului aplicat pe instrumentele Chorus.

4. ATENTIONARI SI MASURI DE PRECAUTIE

NUMAI PENTRU UTILIZARE IN DIAGNOSTICAREA *IN VITRO*

Acest kit contine materiale de origine umana, care au fost testate si au indicat un rezultat negativ pentru prezenta HBsAg si pentru anticorpii anti-HIV-1, anti-HIV-2 si anti-HCV, prin testarea cu ajutorul metodelor aprobate de catre FDA. Deoarece nici un test de diagnosticare nu poate oferi garantii complete cu privire la absenta agentilor infectiosi, toate materialele de origine umana trebuie manevrate ca fiind potential infectioase. In cazul manevrarii materialelor de origine umana, trebuie urmate toate masurile de precautie adoptate in mod normal in practica de laborator.

Indepartarea deseurilor: probele de ser, calibratorii si stripurile utilizate trebuie tratate ca fiind reziduuri infectioase si eliminate conform legii.

Informatii cu privire la Sanatate si Siguranta

1. Nu pipetati cu gura.
2. In timpul manevrarii specimenelor, purtati manusi de unica folosinta si ochelari de protectie.
3. Spalati-va temeinic pe maini dupa pozitionarea dispozitivelor in instrumentul CHORUS.
4. Urmatorii reactivi contin concentratii scazute de substante daunatoare sau iritante:
 - a) Conjugatul si controalele contin fenol
 - b) Substratul este acid

In cazul in care vreunul dintre reactivi intra in contact cu pielea sau cu ochii, spalati zona temeinic cu apa.
5. Acizii neutralizati si alte deseuri lichide ar trebui decontaminate prin adaugarea unui volum suficient de hipoclorit de sodiu pentru a obtine o concentratie finala de cel putin 1.0%. Un timp de expunere de 30 de minute la

hipoclorit de sodiu in concentratie de 1%, poate fi necesar pentru a asigura o decontaminare eficienta.

- Picaturile de substante potential infectioase trebuie indepartate imediat cu prosop de hartie absorbanta, si, inainte de a continua lucrul, zona contaminata trebuie tamponata, de exemplu, cu 1,0% solutie de hipoclorit de sodiu. Hipocloritul de sodiu nu trebuie utilizat peste zone in care s-au varsat substante continand acid, cu exceptia cazului in care acea zona a fost mai intai stearsa si uscata. Materialele utilizate pentru curatarea picaturilor, inclusiv manusile, trebuie indepartate ca fiind deseuri potential bio-periculoase. Nu autoclavati materialele ce contin hipoclorit de sodiu.

Masuri de Precautie Analitice

Inainte de utilizare, lasati dispozitivele sa ajunga la temperatura camerei (18-30°C); utilizati-le in decurs de 60 de minute.

- Indepartati dispozitivele al caror substrat (godeul 4) este de coloratie albastra.**
- La adaugarea probei in godeu, verificati ca aceasta sa fie perfect distribuita pe fundul godeului.
- Verificati ca reactivii sa existe in dispozitiv, si ca dispozitivul sa nu fie deteriorat; nu utilizati dispozitive carora le lipseste vreun reactiv.
- Dispozitivele sunt destinate folosirii impreuna cu instrumentul Chorus; instructiunile de utilizare trebuie urmate cu atentie si trebuie consultat manualul de operare al instrumentului.
- Verificati ca instrumentul Chorus sa fie setat in mod corect (vezi Manualul de Operare al Instrumentului Chorus).
- Nu deteriorati codul de bare aflat pe manerul dispozitivului, pentru a permite instrumentului sa il citeasca in mod corect.
- Pentru depozitarea probelor, evitati utilizarea congelatoarelor cu auto-dejivrare.
- Codurile de bare deteriorate pot fi introduse manual in instrument.
- In timpul depozitarii si utilizarii, nu expuneti dispozitivele la lumina puternica sau la vapori de hipoclorit.
- Nu utilizati eșantioane puternic hemolizate, lipemice, icterice, necoagulate complet sau care prezintă contaminare microbiană.
- Inainte de a introduce dispozitivele in instrument, verificati ca godeul de reactie sa nu contina corpuri straine.
- Pipetati serul de testare (50 µl) in godeul 1 al dispozitivului (vezi figura).
- Nu utilizati dispozitivul dupa data de expirare.
- Asigurati-va ca instrumentul este conectat la Tampon de Spalare Autoimunitate COD 86004.**

5. COMPONENTA KITULUI SI PREGATIREA REACTIVILOR

Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 36 de determinari (REF 86098).

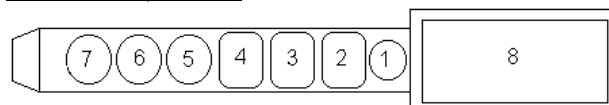
Kitul contine suficiente dispozitive si substante pentru efectuarea a 12 de determinari (REF 86098/12).

DD DISPOZITIVE

6 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 86098).

2 pachete, fiecare continand 6 dispozitive (REF 86098/12).

Descrierea dispozitivului:



Pozitia 8: Spatiu pentru aplicarea codului de bare

Pozitia 7: gol

Pozitia 6: GODEUL MICROPLACII

Sensibilizat cu peptide specifice de gliadină deamidată

Pozitia 5: GODEUL MICROPLACII necaptusit

Pozitia 4: TMB SUBSTRAT

Continut: Tetramethylbenzidine 0.26 mg/mL si H₂O₂ 0.01% stabilizat in 0.05 mol/L tampon citrat (pH 3.8)

Pozitia 3: PROBA DILUANT

Continut: solutie proteica salina cu Proclin

Pozitia 2: CONJUGAT

Continut: anticorpi monoclonali anti-umani IgA tapetati cu peroxidaza din hrean in solutie tampon

Pozitia 1: GODEU GOL

In care operatorul trebuie sa introduca serul nediluat

Utilizare: lasati un pachet sa ajunga la temperatura camerei, deschideti pachetul si scoateti dispozitivele necesare; repuneti-le pe celelalte in punga impreuna cu pliculetul cu silica gel, scoateti aerul din punga si **sigilati** prin presarea sistemului de inchidere. Pastrati la 2-8°C.

CALIBRATOR CALIBRATOR

1 x 0.175 mL

Continut: Ser uman diluat, cu o concentratie cunoscuta de anticorpi, continand conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

CONTROL + CONTROL POZITIV

1 x 0.425 mL

Continut: Ser uman diluat, cu o concentratie cunoscuta de anticorpi, continand conservant. In forma lichida, gata de utilizare.

MATERIALE NECESARE DAR NEFURNIZATE

- WASHING BUFFER AUTOIMMUNITY (REF 86004)
- CLEANING SOLUTION 2000 (REF 83605)
- SANITIZING SOLUTION (REF 83604)
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT (REF 83607)
- CHORUS/CHORUS TRIO (REF 81000-81200)
- Apa distilata sau deionizata
- Sticlărie obisnuita de laborator: cilindrii, tuburi de testare etc.
- Micropipete pentru recoltarea exacta a 50-200 µl de solutie
- Manusi de unica folosinta
- Solutie de Hipoclorit de Sodiu (5%)
- Recipiente pentru colectarea materialelor potential infectioase

6. PASTRAREA SI STABILITATEA REACTIVILOR

Reactivii trebuie pastrati la 2/8°C. In cazul pastrarii la o temperatura necorespunzatoare, calibrarea trebuie repetata, iar ciclul de rulare trebuie validat utilizand serul de control (a se vedea sectiunea 9, Validarea testului).

Data de expirare este imprimata pe fiecare componenta si pe eticheta kitului.

Dupa deschidere, stabilitatea reactivilor este limitata:

DISPOZITIVELE	8 saptamani la 2/8°C
CALIBRATORUL	8 saptamani la 2/8°C
CONTROLUL POZITIV	8 saptamani la 2/8°C

7. RECOLTAREA PROBEI SI DEPOZITAREA

Proba este compusa din ser recoltat normal din vena si manevrata cu toate precautiile impuse de buna practica in laborator. Serul proaspat poate fi depozitat timp de 4 zile la 2/8°C sau inghetat pentru perioade mai lungi la -20°C si poate fi decongelat de maxim 3 ori. Nu tineti probele in frigider care se dezgheata automat. Probele decongelate trebuie vortexate cu atentie inainte de utilizare. Neutralizarea la caldura poate duce la rezultate eronate. Calitatea probei poate fi serios afectata de contaminarea microbiana, care poate duce la rezultate eronate.

8. PROCEDURA ANALIZEI

1. Deschideti pachetul (pe latura care contine dispozitivul de inchidere prin presare), extrageti numarul necesar de dispozitive si, dupa ce ati eliminat aerul din interiorul pungii continand restul dispozitivelor, sigilati-o.
2. Verificati starea dispozitivului in conformitate cu indicatiile mentionate in capitolul 4, Masuri de Precautie Analitice.
3. Distribuiti 50 µl din serul de testare nediluat in godeul numarul 1 al fiecarui dispozitiv; la fiecare schimbare de lot, utilizati un dispozitiv pentru calibrator.
4. Pozitionati dispozitivele in instrument. Efectuati calibrarea (in cazul in care este necesar) si testul conform specificatiilor din Manualul de Operare al instrumentului Chorus.

9. VALIDAREA TESTULUI

Utilizati serul de control pentru a verifica validitatea rezultatelor obtinute. Acesta trebuie folosit conform indicatiilor din manualul de operare. In cazul in care instrumentul semnaleaza faptul ca serul de control are o valoare care se situeaza in afara intervalului acceptabil, calibrarea trebuie repetata. Rezultatele anterioare vor fi corectate in mod automat.

Daca rezultatul serului de control continua sa se situeze in afara intervalului acceptabil, apelati Suportul Stiintific.

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAREA REZULTATELOR

Instrumentul Chorus/Chorus TRIO exprima rezultatele in AU/ml calculate pe baza unei curbe de calibrare pastrata in memoria instrumentului.

Rezultatele pot fi interpretate dupa cum urmeaza:

POZITIV: cand rezultatul este > 18 AU/ml

NEGATIV: cand rezultatul este < 12 AU/ml

INCERT/ECHIVOC: pentru toate valorile cuprinse intre 12 si 18 AU/ml

Daca rezultatul este incert, repetati testul. Daca ramane incert, colectati o noua proba de ser.

11. LIMITARI

Toate rezultatele pozitive necesita o interpretare atenta.

Testul nu poate fi folosit ca unica metoda pentru diagnosticul clinic. Rezultatele negative nu exclud neaparat o eventuala infectie.

Rezultatele testului ar trebui interpretate in raport cu informatia disponibila din evaluarea istoricului sau a altor proceduri de diagnosticare.

12. ARIA DE CALIBRARE

Titrul obtinut impreuna cu testul trebuie sa se incadreze in aria de calibrare de 3.0-300 AU/ml.

Pentru probele cu un titru > 300AU/ml, repetati testul preluand proba cu Diluantul Probei Control Negativ (PF83607 – care nu este furnizat impreuna cu kitul).

13. ARIA DE REFERINTA

In randul populatiei normale, valorile asteptate, care au fost determinate prin examinarea a 120 de seruri provenite de la donatori sanatosi, s-au situat intre 3.0 si 10.8 AU/ml.

14. SENSIBILITATEA SI SPECIFICITATEA DIAGNOSTICULUI

In cadrul unui experiment extern, 162 probe au fost testate cu kitul Diesse si cu alt kit disponibil pe piata.

Rezultatele sunt redade in tabelul urmatoar:

		Referinta		
		+	-	Total
Diesse	+	58	1	59
	-	3	100	103
	Total	61	101	162

Procentajul Acordului Pozitiv (~Sensibilitatea Diagnosticului):

95.1% CI_{95%}: 86.4-98.3

Procentajul Acordului Negativ: (~Specificitatea Diagnosticului):

99.0% CI_{95%}: 94.6-99.8

15. PRECIZIA

Proba	Precizia in cadrul ciclului de rulare		Precizia intre ciclurile de rulare	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	32.1	4.8	29.0	11.5
2	10.5	12.9	9.5	11.2
3	90.9	7.4	79.2	3.9

Proba	Precizia intre loturi		Precizia intre instrumente	
	Media (AU/ml)	CV%	Media (AU/ml)	CV%
1	27.8	11.0	27.8	10.9
2	10.5	12.7	10.3	14.5
3	74.6	7.8	76.3	8.3

16. BIBLIOGRAFIE

1. Dietrich W et al : 81997) Nat. Med. 3: 797-801.
2. Holtmeier W and Caspary WF (1998) Z. Gastroenterol. 36: 587-597.
3. Caspary WF, Holtmeier W (1999) Deutsches Arzteblatt 96 (36): A-2213-2214.
4. Catassi C. et al (1994) Lancet 343: 200-203.
5. Volta U. et al (2008) Dig Dis Sci 53(6): 1582-1588



DIESSE Diagnostica Senese S.p.A.
Via delle Rose 10
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy



	EN Date of manufacture ES Fecha de fabricación IT Data di fabbricazione	FR Date de fabrication GR Ημερομηνία Παραγωγής PT Data de fabrico
	EN Use By ES Fecha de caducidad IT Utilizzare entro	FR Utiliser jusqu'à GR Ημερομηνία λήξης PT Prazo de validade
	EN Do not reuse ES No reutilizar IT Non riutilizzare	FR Ne pas réutiliser GR Μην κάνετε επαναληπτική χρήση PT Não reutilizar
	EN Caution, consult accompanying documents ES Atención, ver instrucciones de uso IT Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	FR Attention voir notice d'instructions GR Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα PT Atenção, consulte a documentação incluída
	EN Manufacturer ES Fabricante IT Fabbicante	FR Fabricant GR Κατασκευαστής PT Fabricante
	EN Contains sufficient for <n> tests ES Contenido suficiente para <n> ensayos IT Contenuto sufficiente per "n" saggi	FR Contenu suffisant pour "n" tests GR Περιεχόμενο επαρκές για «ν» εξετάσεις PT Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	EN Temperature limitation ES Límite de temperatura IT Limiti di temperatura	FR Limites de température GR Περιορισμοί θερμοκρασίας PT Limites de temperatura
	EN Consult Instructions for Use ES Consulte las instrucciones de uso IT Consultare le istruzioni per l'uso	FR Consulter les instructions d'utilisation GR Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης PT Consulte as instruções de utilização
	EN Biological risks ES Riesgo biológico IT Rischio biologico	FR Risques biologiques GR Βιολογικοί κίνδυνοι PT Risco biológico
	EN Catalogue number ES Número de catálogo IT Numero di catalogo	FR Référence du catalogue GR Αριθμός καταλόγου PT Referência de catálogo
	EN In Vitro Diagnostic Medical Device ES Producto sanitario para diagnóstico in vitro IT Dispositivo medico-diagnostico in vitro	FR Dispositif médical de diagnostic in vitro GR In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν PT Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	EN Batch code ES Código de lote IT Codice del lotto	FR Code du lot GR Αριθμός Παρτίδας PT Código do lote