

# CHORUS

## tTg-A

**REF 86058**

**REF 86058/12**



**DIESSE**  
**DIESSE**

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

|   | Capitolo<br>Section<br>Capítulo |
|---|---------------------------------|
| Modifiche introdotte nella revisione corrente<br>Changes introduced in the current revision<br>Cambios introducidos en la revisión actual<br>Alterações introduzidas na revisão atual | <b>REF</b> - 5 -<br>9           |

CE



**ISTRUZIONI PER L'USO**

**CHORUS  
tTg-A**

**Per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi IgA anti-Transglutaminasi tissutale**

**Solo per uso diagnostico *in vitro***

**1. UTILIZZAZIONE**

**Metodo immunoenzimatico per la determinazione semiquantitativa degli anticorpi di classe IgA anti-Transglutaminasi tissutale nel siero umano con dispositivo monouso applicato agli strumenti Chorus e Chorus TRIO.**

**2. INTRODUZIONE**

L'enteropatia sensibile al glutine (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, poichè 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 liscia, viene effettuata mediante biopsia dell'intestino tenue accompagnata da marker sierologici. Gli anticorpi anti-gliadina e anti-endomisio (EMA) sono di notevole importanza per la celiachia. Vengono individuati nel test indiretto per immunofluorescenza (IFT), sebbene questo test sia limitato alla determinazione di anticorpi IgA. L'identificazione della tTg come antigene target principale degli EMA ha permesso una diagnosi più facile ed affidabile della celiachia. La tTg è un enzima che viene liberato in caso di danno cellulare ed è implicato nella riparazione tissutale.

Gli anticorpi anti-tTg presentano una maggiore sensibilità e specificità per la celiachia rispetto agli anticorpi anti-gliadina e, inoltre, sono strettamente correlati all'attività della malattia. Sono pertanto perfettamente idonei al monitoraggio della dieta. La determinazione di anticorpi anti-tTg della classe IgG è molto importante soprattutto per il 2-5% dei pazienti che presentano una carenza di IgA e nei quali, pertanto, gli anticorpi anti-tTg non possono essere individuati tramite la determinazione di IgA. Recenti studi con anticorpi anti-tTg hanno messo in luce

una moltitudine di casi subclinici di celiachia. Questo fatto va a supporto della teoria secondo la quale la maggioranza dei casi di celiachia, soprattutto in età adulta, rimane celata e quindi anche non curata.

**3. PRINCIPIO DEL METODO**

Il dispositivo Chorus tTg-A è pronto all'uso per la determinazione degli anticorpi IgA anti-Transglutaminasi tissutale, negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

Il test si basa sul principio ELISA (Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay). 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 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 negli strumenti Chorus/Chorus TRIO.

I risultati sono espressi in Unità Arbitrarie (AU/ml).

**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/Chorus TRIO.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Schede di Sicurezza (disponibile su richiesta).
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**
- Nell'aggiungere il campione al pozzetto verificare che sia perfettamente distribuito sul fondo.
- Controllare l'effettiva presenza dei reagenti nel dispositivo e l'integrità del dispositivo stesso. Non utilizzare dispositivi che al controllo visivo presentano mancanza di qualche reagente e/o corpi estranei nel pozzetto di reazione.
- I dispositivi devono essere utilizzati insieme allo strumento Chorus/Chorus TRIO, seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
- Controllare che lo strumento Chorus/Chorus TRIO sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
- Non alterare il codice a barre posto sulla impugnatura del device al fine di permetterne la corretta lettura da parte dello strumento.
- Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
- Codici a barre difettosi possono essere inseriti manualmente nello strumento (vedi Manuale Utente).
- Non esporre i dispositivi a forte illuminazione né a vapori di ipoclorito durante la conservazione e l'uso.
- Può essere fonte di errori l'uso di campioni fortemente emolizzati, lipemici, itterici, di siero non completamente coagulato o di campioni che presentano inquinamento microbico.
- Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza
- 12. 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 86058).

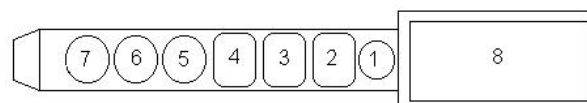
Il kit è sufficiente per 12 determinazioni (REF 86058/12).

#### **DD** DISPOSITIVI

6 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86058).

2 confezioni da 6 dispositivi ciascuna (REF 86058/12).

#### Descrizione:



**Posizione 8:** Spazio disponibile per etichetta con codice a barre

**Posizione 7:** Vuota

**Posizione 6:** POZZETTO DI MICROPIASTRA

Sensibilizzato con transglutaminasi tissutale umana ricombinante

**Posizione 5:** POZZETTO DI MICROPIASTRA

Non sensibilizzato.

**Posizione 4:** SUBSTRATO TMB

Contenuto: Tetrametilbenzidina 0.26 mg/mL ed H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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.

**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 contenente anticorpi IgA anti-Transglutaminasi tissutale e conservante. Liquido, pronto all'uso.

**CONTROL +** CONTROLLO POSITIVO 1 x 0.425 ml

Contenuto: Siero umano diluito contenente anticorpi IgA anti-Transglutaminasi tissutale e 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
- Strumento Chorus/Chorus TRIO
- 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 un'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.

I reagenti hanno una stabilità limitata 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.

Non sono conosciute le conseguenze dell'utilizzo di altri liquidi biologici.

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 sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

L'inattivazione al calore può fornire risultati erronei.

La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erronei.

## 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/Chorus TRIO. 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 Utente 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 il 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 AU/ml

NEGATIVO: quando il risultato è < 12 AU/ml

DUBBIO/EQUIVOCO: quando il risultato è compreso fra 12 e 18 AU/ml

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

## 11. LIMITAZIONI DEL TEST

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente. Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed 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 - 100.0 AU/ml.

Per campioni > 100.0 AU/ml ripetere il test prediluendo il campione in Negative Control/Sample Diluent (PF83607- non fornito con il kit).

## 13. SPECIFICITA' ANALITICA

Sono stati testati 5 campioni (2 Negativi, 1 a Cut-Off e 2 Positivi) ai quali sono stati aggiunti i seguenti interferenti:

Fattore Reumatoide (44-220 UI/ml)  
Bilirubina (4.5-45 mg/dl)  
Trigliceridi (10-250 mg/dl)  
Emoglobina (5-30 mg/ml)

La presenza nel siero in esame di sostanze interferenti sopra riportate non altera il risultato del test.

## 14. CROSS-REATTIVI

23 campioni, positivi a ASCA, CCP, Cenp-B, dsDNA, GBM, Jo-1, MPO, PR3, RF, U1-70 RNP, Scl-70, Sm, SS-A, SS-B, tTg sono stati testati.

Non sono state rilevate reazioni crociate significative.

## 15. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 151 campioni con un kit Diesse ed un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

|        |        | Riferimento |    |        |
|--------|--------|-------------|----|--------|
|        |        | +           | -  | Totale |
| Diesse | +      | 68          | 0  | 68     |
|        | -      | 2           | 81 | 83     |
|        | Totale | 70          | 81 | 151    |

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

97.1% CI<sub>95%</sub>: 90.1-99.2

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

100.0% CI<sub>95%</sub>: 95.5-99.9

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Costante di Cohen) di 0.98.

#### 16. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

| Campione | All'interno della seduta |     | Tra sedute    |     |
|----------|--------------------------|-----|---------------|-----|
|          | Media (AU/ml)            | CV% | Media (AU/ml) | CV% |
| 1        | 4.7                      | 3.8 | 5.0           | 6.0 |
| 2        | 5.0                      | 4.2 | 4.4           | 8.9 |
| 3        | 10.5                     | 4.4 | 10.7          | 2.5 |
| 4        | 10.4                     | 7.1 | 11.0          | 9.4 |
| 5        | 16.1                     | 5.4 | 14.6          | 7.7 |
| 6        | 19.1                     | 7.2 | 18.8          | 9.5 |
| 7        | 29.8                     | 8.5 | 30.0          | 9.3 |
| 8        | 28.2                     | 6.9 | 29.7          | 9.1 |
| 9        | 63.9                     | 6.8 | 69.4          | 6.5 |
| 10       | 72.3                     | 3.7 | 84.0          | 7.3 |

| Campione | Tra lotti     |     | Tra strumenti |     |
|----------|---------------|-----|---------------|-----|
|          | Media (AU/ml) | CV% | Media (AU/ml) | CV% |
| 1        | 5.0           | 4.2 | 5.0           | 1.2 |
| 2        | 4.8           | 4.2 | 4.8           | 2.1 |
| 3        | 10.7          | 4.4 | 10.8          | 1.4 |
| 4        | 12.4          | 7.7 | 12.4          | 8.5 |
| 5        | 14.8          | 2.1 | 14.7          | 2.9 |
| 6        | 19.1          | 5.2 | 19.2          | 4.3 |
| 7        | 30.2          | 3.9 | 30.2          | 0.8 |
| 8        | 29.8          | 1.3 | 29.7          | 4.5 |
| 9        | 70.2          | 4.4 | 70.1          | 2.3 |
| 10       | 90.4          | 2.6 | 90.4          | 6.2 |

#### 17. BIBLIOGRAFIA

- Dieterich W., Ehnis T., Bauer M., Donner P., Volta U., Riecken E.O., Schuppan D. "Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease " Nat. Med. 1997: 797-801.
- Sardy M., Odenthal U., Karpáti S., Paulsson M., Smyth N. "Recombinant Human Tissue Transglutaminase ELISA for the Diagnosis of Gluten-sensitive Enteropathy" Clin. Chem. 1999 Dec; 45 (12): 2142-2149.



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

