

# BlueWell

## Transglutaminase IgG ELISA

Référence: TTG02-96

### 1. INDICATIONS D'UTILISATION

La trousse BlueWell Transglutaminase IgG ELISA permet la détection semi-quantitative des anticorps IgG dirigés contre la t-transglutaminase dans le sérum humain.

Cette trousse est destinée à confirmer les résultats des profils spécifiques obtenus par immunofluorescence, la méthode de dépistage et de référence en auto-immunité, et comme aide au diagnostic de la maladie cœliaque (pour plus de détails, voir 11.5 Valeur diagnostique des auto-anticorps).

Ce test est destiné à une large population de routine. Cette trousse est strictement réservée à un usage professionnel dans les laboratoires d'analyses cliniques. Elle ne peut être utilisée que manuellement ou dans un système automatisé ouvert pour tests ELISA, programmé selon le schéma de pipetage décrit au point 9.2.

### 2. PRINCIPE DU TEST

Cette trousse et tous ses composants sont destinés à être réalisés manuellement ou dans un instrument ouvert spécialement conçu pour le traitement des plaques ELISA.

La trousse présente utilise une méthode immunoenzymatique en phase solide avec 96 barrettes à micropuits revêtus sécables et un système de détection peroxydase-TMB. Les micropuits sont revêtus d'antigènes hautement spécifiques.

Dans la procédure de dosage, les échantillons sériques sont dilués au 1/51 et mis en incubation dans les micropuits. Les anticorps humains, s'ils sont présents dans l'échantillon, se lient à l'antigène spécifique. Les anticorps non liés ou en excès sont éliminés par lavage. Ensuite, des anticorps de lapin anti-IgG humaines conjugués à de la peroxydase de raifort sont ajoutés dans les puits. Le conjugué enzymatique se lie aux complexes antigène-anticorps. Après un second lavage pour éliminer le conjugué en excès, la solution TMB / substrat est ajoutée. L'activité enzymatique, si elle est présente, génère une réaction colorimétrique (bleue). De l'acide dilué est ajoutée pour arrêter la réaction. Ensuite la couleur vire du bleu au jaune et peut être mesurée à 450 nm/620 nm sur un lecteur de microplaques. L'absorbance (densité optique) est directement proportionnelle à la concentration d'anticorps IgG liés à la surface des micropuits. La trousse se compose de 96 tests à usage unique.

### 3. CONTENU DE LA TROUSSE

**Avant toute utilisation de la trousse, assurez-vous que tous les articles mentionnés s'y trouvent et que les caractéristiques décrites correspondent.**

**Ne pas utiliser cette trousse si elle est incomplète, endommagée ou non-conforme. Dans ce cas, veuillez contacter votre distributeur.**

#### 3.1 Matériel fourni :

<b>A reconstituer:</b> <b>20x Tampon de lavage</b>	<b>1 flacon, 50 ml – concentré 20 x (bleu)</b> <i>Contenu: H<sub>2</sub>O, TBS, NaCl, Tween, conservateur, colorant</i>
<b>Prêts à l'emploi:</b> <b>Diluant pour échantillon</b>	<b>1 flacon, 50 ml (jaune)</b> <i>Contenu: H<sub>2</sub>O, NaCl, TBS, Tween, BSA, colorant, conservateur</i>
<b>Substrat</b>	<b>1 vial, 20 ml (incolore)</b> <i>Contenu: H<sub>2</sub>O, TBS, acétate de sodium, perborate de sodium, stabilisateur, EDTA, conservateur</i>
<b>Contrôle négatif</b>	<b>1 vial, 1 ml (vert)</b> <i>Contenu: sérum humain (dilué), colorant, conservateur</i>
<b>Calibrateurs</b>	<b>6 flacons, 1 ml chacun 0, 25, 50, 100, 200, 400 U/ml.</b> <b>(couleur fonçant avec la concentration)</b> <i>Contenu: sérum humain (dilué), colorant, conservateur</i>
<b>Contrôle positif</b>	<b>1 flacon, 1 ml (bleu)</b> <i>Contenu: sérum humain (dilué), colorant, conservateur</i>
<b>Conjugué</b>	<b>1 flacon, 20 ml (rouge)</b> <i>Contenu: H<sub>2</sub>O, NaCl, TBS, KCl, immunoglobulines de lapin anti-IgG humaines/HRP, colorant, conservateur</i>
<b>Solution d'arrêt</b>	<b>1 flacon, 20 ml (incolore)</b> <i>Contenu: acide sulfurique 2.5 %</i>
<b>Plaque ELISA</b>	<b>12 x 8 barrettes à micropuits sécables sur support plastique</b> <i>Revêtus de t-transglutaminase (recombinant, humain)</i>

**Abréviation en ordre alphabétique:**

BSA = albumine de sérum bovin; EDTA = acide éthylènediaminetétraacétique; HRP = peroxydase de raifort; KCl = chlorure de potassium; NaCl = chlorure de sodium; TBS = Tris Buffer Saline; TMB = Tetramethylbenzidine

Pour plus d'informations sur la composition et la concentration des ingrédients actifs utilisés, veuillez vous référer à la fiche de données de sécurité disponible sur demande ou sur [www.d-tek.be](http://www.d-tek.be)

**Symboles utilisés sur les étiquettes de la trousse**

	Attention : consult instructions for use Attenzione : consulti le istruzioni per uso Achtung :Gebrauchsanwendung beachten Attention : consulter le mode d'emploi Atención : consultar las instrucciones Atenção : consultar instruções para uso Προσοχή : Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης		For ... uses Per ... dosaggi Für ... Anwendungen Pour ... utilisations Para ... usos Para ... utilização για ... χρήσεις
<b>IVD</b>	In vitro diagnostic medical device Dispositivo médico diagnóstico in vitro Zur medizinischen diagnostischen Anwendung in vitro Dispositif médical de diagnostic in vitro Dispositivo médico para uso diagnóstico in vitro Dispositivo médico para uso diagnóstico in vitro Ιατρικό υλικό για διάγνωση In Vitro	<b>REF</b>	Code Codice Artikelnummer Référence Código Código Κωδικός
	To be stored from 2°C to 8°C Conservazione da 2 - 8°C bei 2°C bis 8°C lagern A conserver de 2°C à 8°C Almacenar a 2 - 8°C Armazenar a 2 - 8°C Αποθηκεύστε στους 2 έως 8°C		Manufactured by Fabricado da Hergestellt von Fabriqué par Fabricado por Fabricado por Κατασκευάζεται από την
<b>LOT</b>	Batch Number Lotto numero Chargennummer Désignation du lot Denominación de lote Número do lote Κωδικός		Use by (last day of the month) Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) Verwendbar bis (letzter Tag des Monats) Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) Estable hasta (usar antes de ultimo día del mes) Data limite para utilização (ultimo dia do mês) Χρήση έως (τελευταία ημέρα του μήνα)
	CE Mark Marcatura CE CE-Kennzeichnung Marquage CE Marca CE Marcação CE μονογράφιση CE		To be protected from direct sunlight Proteggere dalla luce Vor Licht schützen Protéger de la lumière Proteja de la luz Proteger da exposição à luz Προστατεύετε τον αντιδραστήριο
<b>WELL</b>	Microwell Pozzetti Kavität Barrette Tira para micropocillo Tira com microcavidades Μικροκοιλότητες	<b>CAL ...</b>	Calibrator ... value Calibratore (... valor) Kalibrator (... Wert) Calibrateurs (... valeur) Calibrador (... valor) Calibrador (... valor) βαθμονομητής (...τιμή)
<b>CONTROL +</b>	Positive control Controllo positivo Positivkontrolle Contrôle positif Controlo positivo Controlo positivo Θετικός μάρτυρας	<b>CONTROL ±</b>	Cut off value Controllo separazione Grenzwertkontrolle Contrôle seuil controllo de corte controllo de redução οριακής τιμής
<b>CONTROL -</b>	Negative control Controllo negativo Negativkontrolle Contrôle négatif Controlo negativo Controlo negativo Αρνητικός μάρτυρας	<b>DIL</b>	Diluent Diluyente campione Verdünnungspuffer Diluant Tampón diluyente Tampão de diluição Ρυθμιστικό διάλυμα αραιώσης
<b>WASH ...x</b>	(... x concentrated) wash buffer Tampone di lavaggio (concentrato... x) (... x konzentrierte) Spülpufferlösung tampon de lavage (... x concentré) (... x concentrado) tampones de lavado (... x concentrado) tampão de lavagem (... x συγκέντρωση) Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης	<b>CONJ ...</b>	Conjugate ... Coniugato ... Konjugat ... Conjugué ... Conjugado ... Conjugado ... Συζυγές ...
<b>SUB</b>	Substrate Substrato Substrat Substrat Substrato Substrato Υπόστρωμα	<b>STOP</b>	STOP solution Soluzione di stop Stopplösung Solution d'arrêt Solución de parada Solução de paragem Διάλυμα διακοπής της αντίδρασης

**3.2 Antigènes utilisés**

t-Transglutaminase Transglutaminase tissulaire ; enzyme calcium-dépendante de la famille des protéines-glutamine γ-glutamyltransférases

**4. MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI**

- Lecteur de microplaque (avec filtre à 450 nm + filtre de référence optionnel à 650 nm)
- Récipient en verre et tubes de dosage pour les dilutions.
- Pipettes de précision
- Optionnel : laveur des microplaques (micropipette multicanaux ou système automatique).
- Papier absorbant

## 5. CONSERVATION

- Conserver tous les réactifs et micropuits à 2-8°C pendant toute la durée de validité (voir la date d'expiration sur la trousse). Ne pas congeler.
- Après l'ouverture initiale de la trousse, les réactifs non utilisés doivent être conservés à 2-8°C à l'abri de la lumière (solaire), de préférence dans la boîte d'origine de la trousse. Les barrettes de micropuits non utilisées doivent être replacées dans les sachets fournis avec le paquet absorbant, scellées et conservées à 2-8°C, de préférence dans la boîte d'origine de la trousse. Lorsqu'ils sont stockés correctement, tous les composants sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée.
- Une fois préparée (voir 9.2), la solution de lavage est stable pendant 1 mois à 4°C.

## 6. SAFETY PRECAUTIONS

1. Tous les réactifs sont destinés au diagnostic in vitro et à une utilisation professionnelle. La trousse ne peut être utilisée que par des techniciens formés.
2. Tout le matériel d'origine humaine utilisé pour certains réactifs de cette trousse (contrôles, calibrateurs) a été testé et trouvé négatif pour l'HbsAg, l'hépatite C et les anticorps VIH 1 et 2 par des méthodes approuvées. Cependant, aucun test ne peut garantir l'absence totale d'agents viraux dans un tel matériel. Par conséquent, manipulez les contrôles et les calibrateurs de la trousse ainsi que les échantillons de patients comme s'ils étaient capables de transmettre des maladies infectieuses.
3. Les réactifs de la trousse ne sont pas considérés comme dangereux car les concentrations en chimiques potentiellement dangereux sont inférieures aux seuils spécifiés par le règlement européen (voir MSDS sur le site [www.d-tek.be](http://www.d-tek.be) ou sur demande).  
Néanmoins, le produit contient des conservateurs qui peuvent posséder (dans leur concentration donnée), des propriétés légèrement polluantes ou provoquant une sensibilisation de la peau. Donc tout contact avec la peau, les yeux ou les muqueuses doit être évité. Comme pour tout produit chimique contenant des risques spécifiques, le produit/les composants du produit ne doivent être manipulés que par du personnel qualifié et avec les précautions nécessaires pour les produits chimiques.
4. D'autre part, les échantillons des patients doivent être manipulés comme s'ils étaient capables de transmettre des maladies infectieuses et nécessitent une protection adaptée (gants, tablier, lunettes). Dans tous les cas, les BPL doivent s'appliquer à l'utilisation de cette trousse avec toutes les règles de sécurité générales ou individuelles en vigueur.
5. Déchets : les échantillons des patients, les calibrateurs, les barrettes incubées ainsi que les flacons de réactifs doivent être considérés comme des déchets infectieux; les emballages ne nécessitent pas une collecte séparée à moins que les directives officielles le spécifient autrement.

## 7. RECOMMANDATIONS

1. D-tek s.a. et ses distributeurs autorisés ne peuvent pas être tenus responsables des dommages occasionnés indirectement ou consécutivement à un changement ou une modification dans le procédé d'utilisation indiqué, à une utilisation abusive de la trousse et/ou à l'utilisation d'une trousse incomplète ou endommagée. L'utilisation de cette trousse est réservée uniquement à un personnel technique qualifié.
2. La responsabilité de D-tek s.a. se limite dans tous les cas au remplacement de la trousse.
3. Dans le cas où un incident grave (blessure, dégradation de l'état de santé, ou décès) se produirait avec ce dispositif IVD, veuillez le signaler immédiatement au fabricant (voir adresse ci-dessous) ainsi qu'à l'autorité compétente de votre pays.

## 8. PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS, MANIPULATION ET CONSERVATION

Le test doit être utilisé uniquement sur des échantillons de sérum récemment prélevés ! Les sérums présentant des particules doivent être centrifugés à faible vitesse. Les échantillons doivent être recueillis dans des tubes secs ou dans des tubes contenant de l'EDTA ou de l'héparine. Eviter d'utiliser un pool de sérums différents, car cela peut conduire à des résultats discordants (voir point 10.4). Après séparation, les échantillons sériques doivent être utilisés immédiatement ou aliquotés et conservés à 2-8°C pendant quelques jours ou congelés à -20°C pour de plus longues périodes. Eviter les cycles répétés de congélation/décongélation des échantillons.

## 9. PROCEDURE DE DOSAGE

### ***Description des CONTRÔLES ET CALIBRATEURS:***

Il n'existe ni matériau de référence ni norme internationale pour les anticorps anti-t-transglutaminase.

Les **calibrateurs**, ainsi que les **contrôles négatifs et positifs**, consistent en un échantillon anti-t-transglutaminase hautement positif, préparé en dilution sérielle. La courbe d'étalonnage reflète la cinétique de liaison des anticorps sur l'antigène immobilisé.

Le **contrôle seuil** est calibré pour être la valeur seuil pour l'interprétation finale des résultats (voir point 10).

### 9.1 Echantillons

- Diluer au 1/51 les échantillons sériques avec le diluant pour échantillons (prêt à l'emploi)  
→ **ex. 500 µl** de diluant + **10 µl** de sérum. **Mélanger.**

### 9.2 Tampon de lavage

- Diluer au 1/20 le tampon de lavage concentré avec de l'eau distillé
  - ❖ **Lavage manuel:** Préparer un volume final de **10 ml** pour **8 puits** ou **120 ml** pour **96 puits**.  
→ **ex. 9.5 ml** d'eau + **0.5 ml** de tampon. Mélanger.
  - ❖ **Lavage automatisé:** Prendre en considération le volume nécessaire pour amorcer l'appareil et le volume « mort » de la pipette automatique.



### 9.3 Micropuits

- Calculer le nombre de puits nécessaires pour le dosage. Retirer les puits non utilisés du support, et les conserver dans le sac en plastique fourni, soigneusement scellé.

### 9.4 Procédure

- Amener tous les réactifs à température ambiante (18-25°C), avant utilisation

- Distribuer 100 µl** de chaque **sérum dilué** de patient dans les micropuits appropriés.
- Distribuer 100 µl de calibrateurs ou des contrôles** dans les puits appropriés.
- Incuber** pendant **30 minutes** à température ambiante (18-25°C).
- Laver 3 fois** avec **200 µl de solution de lavage (diluée au 1/20)**.
- Distribuer 100 µl de conjugué** dans chaque puits.
- Incuber** pendant **30 minutes** à température ambiante (18-25°C).
- Laver 3 fois** avec **200 µl de solution de lavage (diluée au 1/20)**.
- Distribuer 100 µl de TMB / substrat** dans chaque puits.
- Incuber** pendant **10 minutes** à température ambiante (18-25°C).
- Distribuer 100 µl de solution s'arrêt** dans chaque puits, en suivant le même ordre que pour la distribution du substrat.
- Lire l'absorbance à 450 nm** (en option 450/650 nm) dans les 30 minutes.

**NOTE:** Nous conseillons de doser un blanc en doublets, dans chaque série (du diluant pour échantillon uniquement, sans échantillon de patient).

#### Procédure manuelle de lavage

Éliminer le liquide des puits en retournant la plaque. Secouer vigoureusement le support retourné sur du papier absorbant. Distribuer 200 µl de solution de lavage diluée dans chaque puits. Laisser reposer 20 secondes. Retirer le liquide des puits en retournant la plaque. Répéter toute l'opération deux fois de plus.

## 10. CALCUL ET INTERPRÉTATION DES RESULTATS

### 10.1 Interprétation semi-quantitative basée sur les calibrateurs (réflétant la cinétique de liaison)

Établir la courbe de calibration en traçant la densité optique de chaque calibrateur par rapport aux valeurs des unités correspondantes. Le modèle de régression le plus précis de la courbe de calibration est le modèle d'ajustement de l'association exponentielle :

$$y = a(1 - e^{-bx})$$

où y correspond à la D.O. mesurée et x correspond à la valeur arbitraire en U/ml.

La D.O. de chaque échantillon (y) peut ensuite être calculée en U/ml (x) sur la base de l'équation de régression.

U/ml	Interprétation
< 20	négatif
20 – 29	limite (équivoque)
>29	positif

### 10.2 Interprétation semi-quantitative basée sur la valeur seuil

Une interprétation semi-quantitative des résultats est possible en utilisant l'étalon à **25 U/ml** comme contrôle valeur seuil. Les résultats sont exprimés en indice de liaison (**Binding Index = B.I.**), défini comme le rapport entre les valeurs d'absorbance de l'échantillon et du contrôle seuil :

$$\mathbf{B.I. = D.O. \text{ échantillon} / D.O. \text{ contrôle seuil}}$$

Un échantillon est **négatif** lorsque **B.I. < 1.0**

Un échantillon est **positif** lorsque **B.I. > 1.0**

### 10.3 Validation des résultats

Un dosage est considéré valide si les spécifications du contrôle d'assurance qualité sont respectées.

Si tel n'est pas le cas, voir le point 10.5, vérifier toute la procédure et refaire le dosage. Si le problème persiste, contacter le fabricant ou le distributeur.

	Spécifications de l'Assurance Qualité	
	D.O.	U./ml
<b>Blanc (diluant pour échantillon)</b>	< 0,100	-
<b>Contrôle Négatif</b>	-	≤ 20
<b>Calibrateur 25 U/ml</b>	< 50 % du calibrateur 400 U/ml	-
<b>Contrôle Positif</b>	> 0,800	200 – 400

#### 10.4 Recommandations importantes pour l'interprétation des résultats

1. Etant donné que la trousse constitue une aide au diagnostic, le diagnostic ne doit pas être établi uniquement sur base de cette trousse. Les résultats doivent être toujours interprétés en tenant compte de l'examen clinique, de l'historique du patient et des résultats obtenus au moyen d'autres méthodes. Aucune technique utilisée seule ne peut écarter la possibilité de résultats faussement positifs ou faussement négatifs. Dans cette optique, un test d'immunofluorescence indirecte devrait, dans la mesure du possible, être réalisé au préalable à la détermination des auto-anticorps faite avec une trousse ELISA. L'immunofluorescence étant reconnue comme méthode de référence en auto-immunité.
2. L'intensité du résultat n'est pas forcément liée au degré d'intensité de la maladie mais bien au taux d'anticorps détectés.
3. Des faibles concentrations d'auto-anticorps peuvent être observées chez des patients sains. Pour cette raison, un résultat positif faible (proche du CO ou entre 20 et 29 U/ml), bien que valide, doit être considéré comme équivoque. Dans un tel cas, il est recommandé de réaliser un nouveau test du patient, de préférence en utilisant un nouvel échantillon. Si le résultat reste équivoque après ce nouveau test, d'autres tests de diagnostic et / ou clinique doivent être utilisés pour aider à déterminer le statut auto-immun du patient.
4. Pour diverses raisons et dans certaines conditions, il est possible que la trousse montre un défaut de performance (cf. 10.5 Dépannage). Dans ce cas, les résultats ne sont pas valides et donc ininterprétables. Il est recommandé de répéter le test. Si le défaut persiste, veuillez contacter votre distributeur.
5. L'intensité des résultats peut diminuer lorsque la trousse est utilisée en fin de vie. Toutefois, les performances de la trousse ne sont pas affectées (détection des positifs et des négatifs) dans des conditions normales d'utilisation et de stockage.
6. Le prélèvement séquentiel (à des dates différentes) d'un patient auto-immun peut parfois conduire à des résultats différents d'un échantillon à l'autre. Cette différence peut avoir plusieurs raisons : le traitement suivi par le patient, l'évolution de la maladie ou une séroconversion. Dans le cas spécifique d'une séroconversion, le résultat peut être positif pour un auto-anticorps dans un premier prélèvement du patient, et devenir positif pour un autre auto-anticorps dans un prélèvement ultérieur du même patient.

#### 10.5 Dépannage

Problème	Causes possibles + actions
Discordance de résultats par rapport à une méthode de référence	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utilisation               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mauvais sérum pipeté</li> <li>- mauvais volume dispensé</li> <li>- Filtre de lecture inapproprié (utiliser 450 nm ou 450/650 nm) → répéter le test</li> <li>- Utilisation de deux échantillons différents d'un même patient (voir point 10.4.6) ou mauvaise manipulation/stockage des échantillons entre les tests</li> </ul> </li> <li>- Matériel               <ul style="list-style-type: none"> <li>- substance interférente dans l'échantillon</li> <li>- l'échantillon est un mélange de différents sérums humains → répéter le test et confirmer sur d'autres méthodes</li> </ul> </li> <li>- Méthode               <ul style="list-style-type: none"> <li>- performance intrinsèque de la trousse (cf 11.2 <i>Sensibilité et spécificité analytiques</i>)</li> <li>- trousse expirée</li> <li>- problème de stabilité</li> </ul> </li> </ul> <p><b>Veuillez contacter votre distributeur pour toute demande de support technique complémentaire</b></p>
Résultats différents dans un même lot ou entre plusieurs lots	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utilisation               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mauvais sérum pipeté</li> <li>- mauvais volume dispensé</li> <li>- filtre de lecture inapproprié (utiliser 450 nm ou 450/650 nm) → répéter le test</li> </ul> </li> <li>- Méthode               <ul style="list-style-type: none"> <li>- performance intrinsèque de la trousse (cf 11.1 <i>Répétabilité et Reproductibilité</i>)</li> </ul> </li> </ul>
Contamination entre puits voisins	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utilisation               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Erreur de pipetage → répéter le test</li> </ul> </li> </ul>
Réaction faible / O.D trop basse	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Utilisation               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Filtre de lecture inapproprié (utiliser 450 nm ou 450/650 nm) → répéter le test</li> <li>→ vérifier l'intégrité des réactifs</li> <li>→ contacter votre distributeur en cas de suspicion de problème dilution incorrecte du tampon ou de l'échantillon</li> </ul> </li> <li>-               <ul style="list-style-type: none"> <li>→ répéter la préparation des réactifs</li> </ul> </li> </ul>
Accroches non spécifiques / bruit de fond élevé/ O.D. trop élevée	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Matériel               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Présence d'un contaminant ou d'une substance interférente dans l'échantillon → répéter le test et confirmer sur d'autres méthodes</li> </ul> </li> <li>- Utilisation               <ul style="list-style-type: none"> <li>- dilution incorrecte du tampon ou de l'échantillon → répéter la préparation des réactifs</li> <li>- Temps ou température d'incubation trop élevés → répéter le test</li> </ul> </li> </ul>
Étiquettes incorrectes	Problème de fabrication, contacter votre distributeur
Contenu de la trousse incorrect	Problème de fabrication, contacter votre distributeur

**NOTE :**

**Les risques résiduels majeurs de la trousse, révélés par l'analyse de risque de la trousse en fin de conception (après mitigation), sont les suivants :**

- 1) Risque de faux résultats lié à une erreur de pipetage (mauvais sérum)**
- 2) Risque de faux résultats lié à une substance interférente contenue dans l'échantillon**

**11. PERFORMANCES**

**11.1 Répétabilité et Reproductibilité**

Des échantillons de référence ont été testés dans des séries successives statistiquement représentatives tant dans un même essai que lors de différents essais et entre différents lots afin de calculer respectivement la variation intra- et inter-essais et inter-lots. Dans tous les cas, les variations en densité optique se trouvaient dans les limites attendues suivantes :

- CV ≤ 10% pour les tests intra-essais
- CV ≤ 15% pour les tests inter-essais
- CV ≤ 20 % pour les tests inter-lots.

**11.2 Analytical sensitivity**

Plage de mesure: De 0 U/ml (négatif) à 400 U/ml (positif élevé).

Limite du blanc (O.D.): 0,099.

Comme aucune norme internationale n'est disponible pour les auto-anticorps, la justesse de la mesure ne s'applique pas à ce produit.

**11.3 Spécificité analytique**

1. Les principaux interférents connus ont été testés sur la trousse. Pour chaque concentration de substance interférente testée, la différence entre le résultat de l'échantillon sans interférent et le résultat obtenu en présence de la substance interférente ne dépasse pas 15 %.

Substance interférente	Concentration max.	Concentration intermédiaire	Concentration min.	Différence <15%
Bilirubine	100 mg/dL	50 mg/dL	25 mg/dL	Oui
Hémoglobine	200 mg/dL	100 mg/dL	50 mg/dL	Oui
Cholestérol	224.3 mg/dL	112 mg/dL	56 mg/dL	Oui
Facteur rhumatoïde IgM	~500IU/ml	~300IU/ml	~100IU/ml	Oui

Remarque : Il est impossible de tester la totalité des possibles interférents décrits. D'autres interférences sont possibles, entres autres de sources médicamenteuses.

2. La haute spécificité analytique du test est garantie par la qualité de l'antigène utilisé. Cette trousse détecte les anticorps IgG contre la t-transglutaminase. Aucune réaction croisée avec d'autres auto-anticorps n'a été constatée.

**11.4 Sensibilité et spécificité cliniques**

Des échantillons de référence caractérisés (confirmés positifs ou négatifs pour des anticorps spécifiques par des laboratoires et/ou des méthodologies de référence) ont été testés en suivant les instructions du test. La sensibilité et la spécificité ont été calculées à partir des résultats obtenus par les évaluations de performance externes et les programmes de contrôle des AQE. Un rapport clinique détaillé est disponible sur demande.

<b>t-Transglutaminase</b>	
<b>IgG</b>	
+	-
vrai positif <b>87</b>	faux positif <b>8</b>
faux négatif <b>5</b>	vrai négatif <b>107</b>
<b>Sensibilité</b>	$\frac{87}{92} = 95\%$
<b>Spécificité</b>	$\frac{107}{115} = 93\%$

Références de publication

- 1: Agardh D, Matthias T, Wusterhausen P, Neidhöfer S, Heller A, Lerner A. Antibodies against neo-epitope of microbial and human transglutaminase complexes as biomarkers of childhood celiac disease. Clin Exp Immunol. 2020 Mar;199(3):294-302. doi: 10.1111/cei.13394. Epub 2019 Nov 11. PMID: 31663117; PMCID: PMC7008223.
- 2: Kaur N, Minz RW, Bhadada SK, Saikia B, Dayal D, Anand S, Joshi N, Singh J, Thapa BR, Kochhar RK, Vaiphei K. Role of anti-tissue transglutaminase IgA+IgG antibodies in detection of potential celiac disease in patients with type 1 diabetes. Indian J Med Res. 2019 Jan;149(1):18-25. doi: 10.4103/ijmr.IJMR\_1136\_16. PMID: 31115370; PMCID: PMC6507530.
- 3: Wolf J, Haendel N, Remmler J, Kutzner CE, Kaiser T, Mothes T. Hemolysis and IgA-antibodies against tissue transglutaminase: When are antibody test results no longer reliable? J Clin Lab Anal. 2018 May;32(4):e22360. doi: 10.1002/jcla.22360. Epub 2017 Nov 23. PMID: 29168584; PMCID: PMC6816937.
- 4: Arigliani M, Rech Morassutti F, Fabris M, Melli P, Tonutti E, Cogo P. Coeliac disease in infants: antibodies to deamidated gliadin peptide come first! Ital J Pediatr. 2017 Aug 10;43(1):70. doi: 10.1186/s13052-017-0392-6. PMID: 28797308; PMCID: PMC5553580.



- 5: De Leo L, Bramuzzo M, Ziberna F, Villanacci V, Martelossi S, Leo GD, Zanchi C, Giudici F, Pandullo M, Riznik P, Mascio AD, Ventura A, Not T. Diagnostic accuracy and applicability of intestinal auto-antibodies in the wide clinical spectrum of coeliac disease. EBioMedicine. 2020 Jan;51:102567. doi:10.1016/j.ebiom.2019.11.028. Epub 2020 Jan 2. PMID: 31901853; PMCID: PMC6940709.
- 6: Terryberry J, Tuomi J, Perampalam S, Peloquin R, Brouwer E, Schuppan D, Guandalini S. Diagnostic accuracy of a fully automated multiplex celiac disease antibody panel for sérum and plasma. Clin Chem Lab Med. 2019 Jul 26;57(8):1207-1217. doi: 10.1515/cclm-2019-0088. PMID: 30903755.
- 7: Smarrazzo A, Magazzù G, Ben-Hariz M, Legarda Tamara M, Velmishi V, Roma E, Kansu A, Mičetić-Turk D, Bravi E, Stellato P, Arcidiaco C, Greco L. Variability of anti-human transglutaminase testing in celiac disease across Mediterranean countries. World J Gastroenterol. 2017 Jun 28;23(24):4437-4443. doi: 10.3748/wjg.v23.i24.4437. PMID: 28706427; PMCID: PMC5487508.
- 8: Zanella S, De Leo L, Nguyen-Ngoc-Quynh L, Nguyen-Duy B, Not T, Tran-Thi-Chi M, Phung-Duc S, Le-Thanh H, Malaventura C, Vatta S, Ziberna F, Mazzocco M, Volpato S, Phung-Tuyet L, Le-Thi-Minh H, Borgna-Pignatti C. Cross-sectional study of coeliac autoimmunity in a population of Vietnamese children. BMJ Open. 2016 Jun 21;6(6):e011173. doi: 10.1136/bmjopen-2016-011173. PMID: 27329441;PMCID: PMC4916638.
- 9: Karsten Conrad, Werner Schössler, Falk Hiepe, Marvin J. Fritzler, Book "Autoantibodies in Organ Autoimmune Diseases", Volume 8, second edition – 2017

### 11.5. Valeurs diagnostiques des auto-anticorps

Anti-t-transglutaminase	Les anticorps IgA contre la transglutaminase tissulaire (endomysium) sont mesurés pour confirmer le diagnostic de la maladie cœliaque. Les anticorps endomysium de type IgA sont détectables, avec une sensibilité de plus de 95 % et une spécificité de 99-100 %, dans la maladie cœliaque et constituent un marqueur hautement spécifique de cette maladie. Ils sont également retrouvés chez la plupart des patients atteints de dermatite herpétiforme. En cas de déficit en IgA, les anticorps nommés de la classe IgG ouvrent la voie à un diagnostic correct.
-------------------------	--

### 12. TEST LIMITATIONS

1. Les résultats obtenus avec ce test de confirmation sont dépendants des performances intrinsèques de la trousse et doivent être considérés comme une aide au diagnostic final, en prenant en considération les résultats obtenus par une technique de référence et les données cliniques du patient.
2. Dans le cas d'échantillons hyper-lipémiques, il est recommandé de les centrifuger avant de pipeter les 10µl d'échantillon, qui doivent être prélevés dans le surnageant.



We Apply Science

