

|                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| REF 41421<br> | <b>ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG</b><br>                                                                                                                                                                                                                  |
| ΟΔΗΓΙΕΣ<br>ΧΡΗΣΗΣ                                                                              |    100  |

#### ΧΡΗΣΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΠΟΙΑ ΠΡΟΟΡΙΖΕΤΑΙ

Η δοκιμασία *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG* είναι μια δοκιμασία ανοσολογικής χημειοφωταύγειας (CLIA) για τον ποσοτικό προσδιορισμό, με τον αποκλειστικό αναλυτή *ZENIT RA*, των ειδικών αντισωμάτων τάξης IgG που κατευθύνονται έναντι των αποαμιδιωμένων πεπτιδίων της γλιαδίνης σε δείγματα ανθρώπινου ορού ή πλάσματος (EDTA, ηπαρίνη).

Αυτός ο προσδιορισμός χρησιμοποιείται ως βοήθημα για τη διάγνωση της εντεροπάθειας από γλουτένη (κοιλιοκάκη) και της ερπητοειδούς δερματίτιδας του Durhing.

**ΠΡΟΣΟΧΗ:** Οποιαδήποτε ιατρική απόφαση δεν μπορεί να βασίζεται στο αποτέλεσμα αυτής της δοκιμασίας μόνο, αλλά πρέπει να βασίζεται στην αξιολόγηση του συνόλου όλων των διαθέσιμων κλινικών και εργαστηριακών δεδομένων.

#### ΚΛΙΝΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ

Η κοιλιοκάκη (ΚΚ) ή τροφική δυσανεξία στη γλουτένη είναι μια αυτοάνοση νόσος, που εκδηλώνεται σε γενετικά ευπαθή άτομα και που πυροδοτείται από μια δίαιτα πλούσια σε δημητριακά, όπως σιτάρι, κριθάρι και σίκαλη<sup>1</sup>.

Η γενετική προδιάθεση είναι κύρια συνδεδεμένη με μερικά γονίδια του συστήματος HLA, συγκεκριμένα με τους γονοτύπους DQ2 και DQ8 που είναι παρόντες στο 95-98 % των ατόμων με κοιλιοκάκη, αλλά που απαντώνται σε ένα ποσοστό μεταξύ 20 και 30 % και στον γενικό πληθυσμό<sup>2,3</sup>. Η επίπτωση της ΚΚ στον καυκασιανό πληθυσμό είναι περίπου 1:100, για το λόγο αυτό ένα στα 30 άτομα που φέρουν τα αλληλόμορφα που κωδικοποιούνται από τα γονίδια HLA DQ2/DQ8 αναπτύσσει ΚΚ<sup>4,5</sup>.

Η γλιαδίνη είναι το πρωτεϊνικό μέρος της γλουτένης που είναι σε θέση να πυροδοτήσει την αυτοάνοση διαδικασία. Η επαφή μεταξύ των πεπτιδίων της γλιαδίνης και των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος του εντερικού υποβλεννογόνου μπορεί να συμβεί κατόπιν μιας αλλοίωσης της εντερικής διαπερατότητας που επάγεται από τη ζονουλίνη που εκκρίνεται από τα κύτταρα του εντέρου. Η γλιαδίνη είναι ένα εξαιρετικό υπόστρωμα για το ένζυμο ιστική τρανσγλουταμινάση (t-TG). Οι δράσεις της αποαμίδωσης και τρασναμίδωσης στα γλιαδινικά πεπτίδια εκ μέρους της t-TG τροποποιούν το συνολικό φορτίο του μορίου επιτρέποντας τη δέσμευσή της στα αντιγόνα HLA DQ2-DQ8, που εκφράζονται από τα κύτταρα που

παρουσιάζουν το αντιγόνο, με το σχηματισμό ενός συμπλέγματος HLA DQ2-DQ8/ αποαμιδιωμένων πεπτιδίων/t-TG. Αυτό το σύμπλεγμα αναγνωρίζεται από τα λεμφοκύτταρα T CD4<sup>6</sup> που πυροδοτούν την ανοσολογική διαδικασία με ενεργοποίηση των ενισχυτικών T λεμφοκυττάρων, παραγωγή

κυτοκινών, πολλαπλασιασμό των λεμφοκυττάρων B και σύνθεση των αντισωμάτων αντι-tT-G<sup>7</sup> και κατά των πεπτιδίων της γλιαδίνης<sup>8,9</sup>. Το αποτέλεσμα είναι μια φλεγμονώδης διαδικασία με διαφορετικές ιστολογικές εικόνες που φτάνουν έως βλάβες (αναστρέψιμες) στον εντερικό βλεννογόνο όπως είναι η ατροφία των λαχνών.

Οι ορολογικές δοκιμασίες έχουν βασικό ρόλο στη διάγνωση της ΚΚ και στην παρακολούθηση της συμμόρφωσης με τη θεραπεία που συνίσταται σε μια ελεύθερη γλουτένης διατροφή. Όπως υποδεικνύεται από τις διεθνείς κατευθυντήριες γραμμές, η πρώτη προσέγγιση στη διάγνωση της ΚΚ είναι η εκτέλεση μιας δοκιμασίας για την αναζήτηση των αυτοαντισωμάτων αντι-t-TG της τάξης IgA σε συνδυασμό με τη δοκιμασία για τον προσδιορισμό των συνολικών IgA. Αυτή η πρακτική συνιστάται διότι τα άτομα με απόλυτο έλλειμμα IgA (IgA  $\leq$  5 mg/dl)<sup>10</sup> έχουν σχετικό κίνδυνο ανάπτυξης ΚΚ 10 φορές μεγαλύτερο από τον φυσιολογικό πληθυσμό<sup>11</sup>.

Η αυξημένη ευαισθησία και ειδικότητα των αυτοαντισωμάτων αντι-τρανσγλουταμινάσης IgA, αντίστοιχα 96-98 % και 93-95 %<sup>12</sup>, σε συνδυασμό με την αντικειμενικότητα και την απόλυτη αυτοματοποίηση της δοκιμασίας αποτελούν την εξήγηση για το ότι η αναζήτηση των αντι-t-TG IgA έχει αντικαταστήσει τα τελευταία χρόνια τις άλλες ορολογικές δοκιμασίες για την ΚΚ<sup>13</sup>. Η αναζήτηση IgA κατά του ενδομυϊού (EMA) διαδραματίζει ωστόσο έναν σημαντικό ρόλο επιβεβαίωσης σε όλους τους θετικούς ορούς αντι-t-TG IgA, ακριβώς λόγω της υψηλότερης ειδικότητας (99-100 %) των EMA παρά το ότι τα ερμηνευτικά ζητήματα αυτής της δοκιμασίας παραμένουν σημαντικά. Στα επιλεκτικά ελλείμματα IgA είναι υποχρεωτική η εκτέλεση αντι-t-TG IgG σε συνδυασμό με τα αντισώματα κατά των αποαμιδιωμένων πεπτιδίων της γλιαδίνης (a-DGP) IgG.

Πρόσφατα καταδείχθηκε ότι τα άτομα με κοιλιοκάκη συνθέτουν ειδικά αντισώματα που κατευθύνονται έναντι μερικών αποαμιδιωμένων πεπτιδίων της γλιαδίνης. Τα αντισώματα αντι-DGP έχουν μεγάλη ειδικότητα στον προσδιορισμό των ατόμων με δυσανεξία στη γλουτένη αντίθετα με τα αντισώματα αντι-γλιαδίνης ως σύνολο, που απαντώνται σε άτομα υγιά ή με άλλες παθολογίες του εντερικού σωλήνα και επομένως με μειωμένη ειδικότητα<sup>14</sup>.

Τα αντισώματα αντι-DGP τάξης IgA παρουσιάζουν ευαισθησία 86-95 % και ειδικότητα 91-95 %, ενώ εκείνα της τάξης IgG παρουσιάζουν ευαισθησία 84-98 % και ειδικότητα 95-98 %. Αυτές οι αποδόσεις υποδεικνύουν τη χρήση τους στον παιδιατρικό πληθυσμό<sup>15</sup> όπου η σύνθεση αυτών των αντισωμάτων φαίνεται να προηγείται εκείνης των αντι-τρανσγλουταμινάσης IgA. Επιπλέον, η χρήση των δοκιμασιών για τα αντισώματα αντι-DGP, τόσο της τάξης IgA όσο και IgG, συνιστάται ανεξαρτήτως ηλικίας, σε όλα τα άτομα με συμπτώματα που υποδηλώνουν ΚΚ στα οποία τα αυτοαντισώματα t-TG ή EMA απουσιάζουν ή παρουσιάζουν χαμηλούς τίτλους<sup>16</sup>.

Σε ασθενείς με κοιλιοκάκη που ακολουθούν ελεύθερη γλουτένης διατροφή έχουμε μια προοδευτική μείωση των αντισωμάτων αντι-t-TG και αντι-γλιαδίνης. Η μείωση του τίτλου των αντισωμάτων της τάξης IgG είναι πιο αργή σε σχέση με εκείνη των αντισωμάτων της τάξης IgA.

## ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το kit *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG* για τον ποσοτικό προσδιορισμό των ειδικών IgG κατά των αποαμιδιωμένων πεπτιδίων της γλιαδίνης χρησιμοποιεί μια έμμεση ανοσολογική μέθοδο δύο βημάτων με βάση την αρχή της χημειοφωταύγειας.

Το ειδικό αντιγόνο χρησιμοποιείται για την επένδυση των μαγνητικών σωματιδίων (στερεά φάση) και ένα αντίσωμα κατά των ανθρώπινων IgG επισημαίνεται με ένα παράγωγο του εστέρα ακριδίνης (συζυγές).

Κατά την πρώτη επώαση τα ειδικά αντισώματα που είναι παρόντα στο δείγμα, στους βαθμονομητές ή στους μάρτυρες δεσμεύονται στη στερεά φάση.

Κατά τη δεύτερη επώαση το συζυγές αντιδρά με τα αντισώματα αντι-γλιαδίνης IgG που δεσμεύονται από τη στερεά φάση.

Μετά από κάθε επώαση, το υλικό που δεν δεσμεύεται στη στερεά φάση απομακρύνεται μέσω αναρρόφησης και ακόλουθης πλύσης.

Η ποσότητα του σημασμένου συζυγούς που παραμένει δεσμευμένο στη στερεά φάση αξιολογείται μέσω ενεργοποίησης της αντίδρασης χημειοφωταύγειας και της μέτρησης του φωτεινού σήματος. Το παραγόμενο σήμα, εκφραζόμενο σε σχετικές μονάδες φωτός (RLU, Relative Light Unit), είναι ενδεικτικό της συγκέντρωσης των ειδικών αντισωμάτων που υπάρχουν στο δείγμα, στους βαθμονομητές και στους μάρτυρες.

## ΑΥΤΟΜΑΤΟΠΟΙΗΣΗ

Ο αναλυτής *ZENIT RA* εκτελεί με αυτόματο τρόπο όλες τις λειτουργίες που προβλέπονται από το πρωτόκολλο του προσδιορισμού: Προσθήκη στον περιέκτη αντίδρασης των δειγμάτων, βαθμονομητών, μαρτύρων, μαγνητικών σωματιδίων, συζυγούς και διαλυμάτων ενεργοποίησης χημειοφωταύγειας, μαγνητικός διαχωρισμός και πλύση των σωματιδίων, μέτρηση εκπεμπόμενου φωτός.

Το σύστημα υπολογίζει τα αποτελέσματα του προσδιορισμού για τα δείγματα και τους μάρτυρες μέσω καμπύλης βαθμονόμησης που είναι αποθηκευμένη στη μνήμη και εκτυπώνει μια αναφορά που περιλαμβάνει όλες τις πληροφορίες που είναι σχετικές με τον προσδιορισμό και τον ασθενή.

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

### Υλικά και αντιδραστήρια που παρέχονται

|       |   |    |        |
|-------|---|----|--------|
| ANTID | 1 | MP | 2,5 mL |
|-------|---|----|--------|

Μαγνητικά σωματίδια επενδυμένα με το αντιγόνο γλιαδίνη (ειδικά αποαμιδιωμένα πεπτιδία) σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει πρωτεΐνες σταθεροποίησης, επιφανειοδραστική ουσία, Pro-Clin 300 και αζίδιο του νατρίου (< 0,1 %) ως συντηρητικά.

|       |   |      |       |
|-------|---|------|-------|
| ANTID | 2 | CONJ | 25 mL |
|-------|---|------|-------|

Μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού κατά ανθρώπινων IgG σημασμένο με ένα παράγωγο εστέρα της ακριδίνης (συζυγές), σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει πρωτεΐνες σταθεροποίησης και αζίδιο του νατρίου (< 0,1 %) ως συντηρητικά.

|       |   |     |       |
|-------|---|-----|-------|
| ANTID | 3 | DIL | 25 mL |
|-------|---|-----|-------|

Διάλυμα αραίωσης δειγμάτων: Ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει αλβουμίνη ορού βοός, επιφανειοδραστική ουσία, αδρανή κυανή χρωστική, Pro-Clin 300 και Γενταμυκίνη SO<sub>4</sub> ως συντηρητικά.

|       |   |       |        |
|-------|---|-------|--------|
| ANTID | 4 | CAL A | 1,6 mL |
|-------|---|-------|--------|

Ορός ανθρώπου με χαμηλή συγκέντρωση αντισωμάτων αντι-γλιαδίνης IgG σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει αλβουμίνη ορού βοός, επιφανειοδραστική ουσία, αδρανή κυανή χρωστική, Pro-Clin 300 και Γενταμυκίνη SO<sub>4</sub> ως συντηρητικά.

|       |   |       |        |
|-------|---|-------|--------|
| ANTID | 5 | CAL B | 1,6 mL |
|-------|---|-------|--------|

Ορός ανθρώπου με υψηλή συγκέντρωση αντισωμάτων αντι-γλιαδίνης IgG σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει αλβουμίνη ορού βοός, επιφανειοδραστική ουσία, αδρανή κυανή χρωστική, Pro-Clin 300 και Γενταμυκίνη SO<sub>4</sub> ως συντηρητικά.

Όλα τα αντιδραστήρια είναι έτοιμα για χρήση.

Τα αντιδραστήρια 1, 2 και 3 είναι τοποθετημένα μαζί σε μια διάταξη που αποτελεί τη φύσιγγα αντιδραστηρίων.

Οι συγκεντρώσεις των βαθμονομητών εκφράζονται σε UA/mL (αυθαίρετες μονάδες) και είναι βαθμονομημένες έναντι ενός εσωτερικού προτύπου αναφοράς. Οι τιμές των συγκεντρώσεων που είναι ειδικές για την παρτίδα του προϊόντος είναι καταχωρημένες στο DATA DISK που βρίσκεται εντός του κιτ.

|           |
|-----------|
| DATA DISK |
|-----------|

Μίνι-DVD που περιέχει όλες τις πληροφορίες σχετικά με τα προϊόντα της σειράς ZENIT RA (Αντιδραστήρια, Βαθμονομητές, Οροί ελέγχου, Βοηθητικά αντιδραστήρια) ενημερωμένες έως την τελευταία παρτίδα

παραγωγής με την εξαίρεση των προϊόντων που έχουν λήξει στην ημερομηνία συμπλήρωσης του νέου DATA DISK.

Αρκεί να φυλάξετε το DATA DISK με τον μεγαλύτερο αριθμό παρτίδας για να διατηρείτε πάντα ενημερωμένες τις απαραίτητες πληροφορίες για τη σωστή λειτουργία του συστήματος.

Απαραίτητα υλικά και αντιδραστήρια που δεν παρέχονται στο κιτ

- Αναλυτής ZENIT RA (ZENIT RA Analyzer) Κωδ. Αρ. 41400
- Κύβος υποδοχών ZENIT RA (ZENIT RA Cuvette Cube) Κωδ. Αρ. 41402  
Συσκευασία 960 υποδοχών.
- Υγρό συστήματος ZENIT RA (ZENIT RA System Liquid) Κωδ. Αρ. 41409  
1 φιάλη 0,5 λίτρου διαλύματος 10x.
- Διάλυμα πλύσης ZENIT RA (ZENIT RA Wash Solution) Κωδ. Αρ. 41407  
1 φιάλη 0,5 λίτρου διαλύματος 20x.
- Σετ εκκινήτων ZENIT RA (ZENIT RA Trigger Set) Κωδ. Αρ. 41403  
1 φιάλη των 250 mL Εκκινήτη Α (διάλυμα προενεργοποίησης)  
1 φιάλη των 250 mL Εκκινήτη Β (διάλυμα ενεργοποίησης)
- Διάλυμα ZENIT RA D-SORB (ZENIT RA D-SORB Solution) Κωδ. Αρ. 41436  
Συσκευασία 2 φιαλών 1 λίτρου διαλύματος έτοιμου προς χρήση.
- Φύσιγγα συστήματος ελέγχου ZENIT RA (ZENIT RA Cartridge Checking System) Κωδ. Αρ. 41401
- Σετ άνω πωμάτων ZENIT RA (ZENIT RA Top Cap Set) Κωδ. Αρ. 41566  
300 άνω πώματα για το κλείσιμο των περιεκτών των βαθμονομητών μετά την πρώτη χρήση.

Άλλα συνιστώμενα αντιδραστήρια

ΣΕΤ ΟΡΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ ZENIT RA CELIAC (ZENIT RA CELIAC CONTROL SET) Κωδ. Αρ. 41452  
3 φιαλίδια του 1,5 mL αρνητικού ανθρώπινου ορού και 3 φιαλίδια του 1,5 mL θετικού ανθρώπινου ορού για αντισώματα αντι-γλιαδίνης.

ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

Τα αντιδραστήρια που παρέχονται στο κιτ *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG* προορίζονται αποκλειστικά για διαγνωστική χρήση in vitro και όχι για χρήση in vivo σε ανθρώπους ή ζώα.

Αυτό το προϊόν πρέπει να χρησιμοποιείται από επαγγελματίες χρήστες με αυστηρή τήρηση των οδηγιών που αναγράφονται στο παρόν έγγραφο.

Η Menarini δεν μπορεί να θεωρηθεί υπεύθυνη για απώλειες ή ζημιές που απορρέουν από μια χρήση που δεν συμμορφώνεται με τις παρεχόμενες οδηγίες.

#### Προφυλάξεις ασφαλείας

Αυτό το προϊόν περιέχει υλικό ζωικής προέλευσης και επομένως ο χειρισμός του πρέπει να γίνεται σαν να περιέχει μολυσματικούς παράγοντες.

Αυτό το προϊόν περιέχει μέρη με υλικό ανθρώπινης προέλευσης. Όλες οι μονάδες ορού ή πλάσματος που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή των αντιδραστηρίων αυτού του kit αναλύθηκαν με μεθόδους εγκεκριμένες από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Η.Π.Α. (FDA) και βρέθηκαν αρνητικές για HBsAg, αντι-HCV, αντι-HIV1 και αντι-HIV2.

Ωστόσο, επειδή καμία μέθοδος εξέτασης δεν είναι δυνατό να προσφέρει πλήρη διασφάλιση για την απουσία παθογόνων παραγόντων, όλο το υλικό ανθρώπινης προέλευσης θα πρέπει να αντιμετωπίζεται ως δυνητικά μολυσματικό και ο χειρισμός του θα πρέπει να γίνεται ανάλογα.

Σε περίπτωση συσκευασίας που έχει υποστεί βλάβη με έκλυση των αντιδραστηρίων, προβείτε στην απολύμανση της εν λόγω περιοχής με ένα αραιωμένο διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου, αφού λάβετε τα κατάλληλα προσωπικά μέτρα προστασίας (ποδιά, γάντια, γυαλιά).

Προβείτε στην απόρριψη του χρησιμοποιούμενου για τον καθαρισμό υλικού και των αποβλήτων της συσκευασίας που αφορούσε η έκλυση, με βάση τους εθνικούς κανονισμούς για την απόρριψη των δυνητικών μολυσματικών αποβλήτων.

Ορισμένα αντιδραστήρια περιέχουν αζίδιο του νατρίου ως συντηρητικό. Επειδή το αζίδιο του νατρίου μπορεί να αντιδράσει με μόλυβδο, χαλκό και μολυβδικό ορείχαλκο σχηματίζοντας εκρηκτικά αζίδια στις σωληνώσεις, συνιστάται να μην απορρίπτετε αντιδραστήρια ή απόβλητα στις αποχετεύσεις αλλά να ακολουθείτε τους εθνικούς κανονισμούς σχετικά με την απόρριψη δυνητικά επικίνδυνων αποβλήτων.

#### Προφυλάξεις λειτουργίας

Για να λάβετε αξιόπιστα αποτελέσματα είναι απαραίτητο να ακολουθήσετε αυστηρά τις παρούσες οδηγίες χρήσης και να ακολουθήσετε επιμελώς όλα όσα υποδεικνύονται στο εγχειρίδιο λειτουργίας του οργάνου.

Τα αντιδραστήρια που παρέχονται στο kit πρέπει να χρησιμοποιούνται αποκλειστικά με το σύστημα αναλυτή ZENIT RA.

Τα μέρη της φύσιγγας αντιδραστηρίων δεν μπορούν να αφαιρεθούν από τη φύσιγγα και να επανασυναρμολογηθούν.

Μην χρησιμοποιείτε το kit μετά την πάροδο της ημερομηνίας λήξης.

#### ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Τα αντιδραστήρια που παρέχονται με το kit είναι όλα έτοιμα για χρήση.

---

## ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΚΑΙ ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

---

Φυλάσσετε τα αντιδραστήρια που παρέχονται με το kit σε 2-8 °C στο σκοτάδι σε κατακόρυφη θέση.

Υπό αυτές τις συνθήκες η φύσιγγα αντιδραστηρίων και οι βαθμονομητές είναι σταθεροί έως την ημερομηνία λήξης.

Η φύσιγγα αντιδραστηρίων μετά το άνοιγμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για 60 ημέρες αν φυλαχθεί στο ψυγείο σε 2-8 °C

ή επί του οργάνου.

Οι βαθμονομητές μετά το άνοιγμα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για 60 ημέρες αν έχουν φυλαχθεί στο ψυγείο σε 2-8 °C και αν η παραμονή επί του οργάνου δεν υπερβαίνει τις 6 ώρες ανά συνεδρία.

Μην καταψύχετε τα αντιδραστήρια και τους βαθμονομητές.

---

## ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΚΑΙ ΣΥΝΤΗΡΗΣΗ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

---

Ο προσδιορισμός πρέπει να γίνεται σε ανθρώπινα δείγματα ορού και πλάσματος (EDTA - Ηπαρίνη).

Αντενδείκνυται η χρήση λιπαιμικών δειγμάτων ή δειγμάτων με αιμόλυση ή θολών δειγμάτων.

Αν ο προσδιορισμός εκτελεστεί μετά από πάνω από 8 ώρες από τη λήψη, διαχωρίστε τον ορό από το πύγμα ή το πλάσμα από τα ερυθρά αιμοσφαίρια, μεταφέροντάς τα από τους πρωτεύοντες σωλήνες διαχωρισμού με γέλη στους δευτερεύοντες σωλήνες χωρίς πρόσθετα.

Πριν αναλυθούν τα δείγματα μπορούν να φυλαχθούν στο ψυγείο σε 2-8 °C για 7 ημέρες το πολύ.

Αν ο προσδιορισμός εκτελεστεί μετά από πάνω από 7 ημέρες, φυλάξτε τα δείγματα στην κατάψυξη (< - 20 °C).

Αποφύγετε την επανειλημμένη κατάψυξη και απόψυξη.

---

## ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

---

Για να λάβετε αξιόπιστα αποτελέσματα ανάλυσης, ακολουθήστε αυστηρά τις οδηγίες που αναγράφονται στο εγχειρίδιο λειτουργίας του οργάνου.

### Τοποθέτηση των αντιδραστηρίων

Όλα τα αντιδραστήρια που παρέχονται με το kit είναι έτοιμα για χρήση.

Πριν την εισαγωγή της φύσιγγας αντιδραστηρίων στο σύστημα, ο περιέκτης των μαγνητικών σωματιδίων πρέπει να ανακινηθεί με οριζόντια περιστροφή έτσι ώστε να ευνοηθεί η επαναιώρηση των σωματιδίων. Αυτό πρέπει να εκτελεστεί αποφεύγοντας το σχηματισμό αφρού.

Τοποθετήστε τη φύσιγγα αντιδραστηρίων στην περιοχή αντιδραστηρίων του οργάνου χρησιμοποιώντας τον ειδικό οδηγό και αφήστε σε ανακίνηση για τουλάχιστον 30 λεπτά πριν τη χρήση.

Η τοποθέτηση της φύσιγγας αντιδραστηρίων καθορίζει προσωρινά την ανάγνωση του αναγνωριστικού γραμμωτού κωδικού. Στην περίπτωση βλάβης της ετικέτας της φύσιγγας ή στην περίπτωση απουσίας ανάγνωσης, τα αναγνωριστικά στοιχεία της φύσιγγας αντιδραστηρίων μπορούν να εισαχθούν με το χέρι.

Το όργανο διατηρεί αυτόματα σε συνεχή ανακίνηση τα μαγνητικά σωματίδια.

Αν η φύσιγγα αντιδραστηρίων αφαιρεθεί από το όργανο, φυλάξτε την στο σκοτάδι σε 2-8 °C σε κατακόρυφη θέση.

#### Τοποθέτηση βαθμονομητών και μαρτύρων

Οι βαθμονομητές και οι μάρτυρες ZENIT RA είναι έτοιμοι για χρήση. Αφήστε τους βαθμονομητές και τους μάρτυρες σε θερμοκρασία δωματίου για 10 λεπτά και ανακινήστε ήπια το περιεχόμενο, με το χέρι ή μέσω περιδίνησης, αποφεύγοντας το σχηματισμό αφρού. Μην αναποδογυρίζετε τον περιέκτη και μη βγάλετε το διατηρητικό πώμα κλεισίματος (κίτρινο πώμα για τους βαθμονομητές και πράσινα ή μπλε πώματα για τους μάρτυρες).

Αν οι βαθμονομητές ή οι μάρτυρες χρησιμοποιούνται για πρώτη φορά, πιέστε το διατηρητικό πώμα εντελώς προς τα κάτω. Με αυτόν τον τρόπο θα διατηρηθεί η μεμβράνη που σφραγίζει τον περιέκτη επιτρέποντας τη λήψη του υγρού που περιέχεται σε αυτόν. Η επίτευξη της κατάβασης του διατηρητικού πώματος επισημαίνεται από την ταυτόχρονη κάλυψη της ερυθρόχρωμης ταινίας που υπάρχει στην άνω πλευρά της ετικέτας (Εικ. 1 – Σφραγισμένος περιέκτης και Διατηρημένος περιέκτης).

Στην περίπτωση που οι βαθμονομητές ή οι μάρτυρες είχαν χρησιμοποιηθεί προηγουμένως, ο περιέκτης θα διαθέτει άνω πώμα κλεισίματος (λευκό πώμα) και η ερυθρόχρωμη ταινία της ετικέτας θα είναι καλυμμένη.

Επί του οργάνου πρέπει να τοποθετούνται αποκλειστικά οι περιέκτες χωρίς άνω πώμα (λευκό πώμα) και με την ερυθρόχρωμη ταινία καλυμμένη (Εικ. 1 – Διατηρημένος περιέκτης).

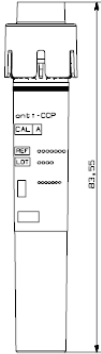
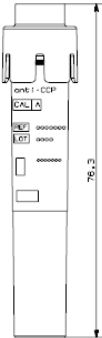
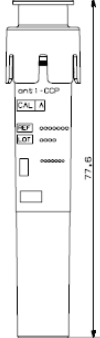
Εισάγετε στο όργανο τους βαθμονομητές ή τους μάρτυρες στην περιοχή δειγμάτων μετά την ανάγνωση του γραμμωτού κωδικού. Τα δεδομένα του γραμμωτού κωδικού μπορούν να εισαχθούν και με το χέρι σε περίπτωση βλάβης της ετικέτας ή σε περίπτωση απουσίας ανάγνωσης.

Οι τιμές των συγκεντρώσεων των αντισωμάτων IgG αντι-γλιαδίνης που υπάρχουν στους βαθμονομητές ή στους ορούς ελέγχου είναι καταχωρημένοι στο DATA DISK και μεταφέρονται αυτόματα στον αναλυτή. Στην περίπτωση μη μεταφοράς των στοιχείων είναι δυνατή η εισαγωγή τους με το χέρι.

Στο τέλος της συνεδρίας οι περιέκτες των βαθμονομητών και των ορών ελέγχου πρέπει να κλείνονται με τα ειδικά άνω πώματα (λευκά πώματα) και να μεταφέρονται σε 2-8 °C έως την επόμενη φορά που θα χρησιμοποιηθούν (Εικ. 1 – Κλειστός περιέκτης).

Οι βαθμονομητές μπορούν να χρησιμοποιηθούν έως τέσσερις φορές το πολύ.

Εικόνα 1: Μορφή περιέκτη

| Σφραγισμένος περιέκτης                                                            | Διατρημένος περιέκτης                                                             | Κλειστός περιέκτης                                                                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
|  |  |  |

Τοποθέτηση των δειγμάτων

Προσδιορίστε τα δείγματα χρησιμοποιώντας τη συσκευή ανάγνωσης γραμμωτών κωδικών και εισάγετέ τα στο όργανο, στον ειδικό περιέκτη. Στην περίπτωση απουσίας του γραμμωτού κωδικού στο δείγμα ή στην περίπτωση απουσίας ανάγνωσης, τα αναγνωριστικά στοιχεία του δείγματος μπορούν να εισαχθούν με το χέρι.

Επιλέξτε τις απαιτούμενες παραμέτρους για κάθε δείγμα.

Βαθμονόμηση

Ο αναλυτής ZENIT RA χρησιμοποιεί μια καμπύλη βαθμονόμησης αποθηκευμένη στη μνήμη (master curve), που παράγεται από τον κατασκευαστή για κάθε παρτίδα φύσιγγας αντιδραστηρίων.

Οι παράμετροι των “master curve”, μαζί με τις τιμές των συγκεντρώσεων των βαθμονομητών, είναι αποθηκευμένες στη μνήμη του DATA DISK και μεταφέρονται στη βάση δεδομένων του οργάνου.

Οι βαθμονομητές A και B χρησιμοποιούνται για την επαναβαθμονόμηση της “master curve” ανάλογα με το όργανο που χρησιμοποιείται και με τα αντιδραστήρια επί του οργάνου.

Για να εκτελέσετε την επαναβαθμονόμηση αναλύστε εις τριπλούν τους δύο βαθμονομητές A και B και εις απλούν τους μάρτυρες. Οι τιμές της συγκέντρωσης που λαμβάνονται με τους μάρτυρες επιτρέπουν την επικύρωση της νέας βαθμονόμησης.

Αφού γίνει αποδεκτή και αποθηκευτεί στη μνήμη η επαναβαθμονόμηση της “master curve”, όλα τα επόμενα δείγματα μπορούν να αναλυθούν χωρίς περαιτέρω βαθμονόμηση, εκτός από τις ακόλουθες περιπτώσεις:

- όταν έχει τοποθετηθεί επί του οργάνου μια φύσιγγα αντιδραστηρίων με μια καινούρια παρτίδα
- όταν οι τιμές των μαρτύρων δεν συμπεριλαμβάνονται στο εύρος αποδοχής
- όταν εκτελείται η διαδικασία συντήρησης του οργάνου
- όταν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης της εγκυρότητας της επαναβαθμονομημένης “master curve”.

Η εγκυρότητα της επαναβαθμονομημένης “master curve” για το kit *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG* διαρκεί 15 ημέρες.

Ο χειρισμός της επαναβαθμονόμησης γίνεται με αυτόματο τρόπο από το όργανο.

#### Προσδιορισμός

Πιέστε το πλήκτρο εκκίνησης.

1. Το σύστημα αναρροφά 100  $\mu$ L Διαλύτη δειγμάτων, 20  $\mu$ L Μαγνητικών σωματιδίων, 100  $\mu$ L Διαλύτη δειγμάτων και 6  $\mu$ L δείγματος ελέγχου (για τους βαθμονομητές ο θετικός ορός παρέχεται προαραιωμένος με το Διαλύτη δειγμάτων και ο όγκος που λαμβάνεται είναι 106  $\mu$ L). Τα διαλύματα και το εναιώρημα που αναρροφώνται διανέμονται στην υποδοχή αντίδρασης.
2. Η υποδοχή αντίδρασης επωάζεται στο ρότορα σε 37 °C για 10 λεπτά.
3. Μετά από αυτήν τη φάση επώασης, τα μαγνητικά σωματίδια διαχωρίζονται και πλένονται.
4. Στην υποδοχή διανέμονται 200  $\mu$ L συζυγούς.
5. Η υποδοχή αντίδρασης επωάζεται στο ρότορα σε 37 °C για 10 λεπτά.
6. Μετά από αυτήν την τελευταία φάση επώασης, τα μαγνητικά σωματίδια διαχωρίζονται και πλένονται και η υποδοχή μεταφέρεται στο θάλαμο ανάγνωσης.
7. Η ποσότητα δεσμευμένου συζυγούς στη στερεά φάση, που εκφράζεται σε RLU, είναι απευθείας ανάλογη με τη συγκέντρωση IgG αντι-γλιαδίνης που υπάρχει στο δείγμα.
8. Οι απαντήσεις που λαμβάνονται παρεμβάλλονται στην καμπύλη βαθμονόμησης και μετατρέπονται σε συγκεντρώσεις.

Δείγματα με τιμές συγκέντρωσης υψηλότερες από το άνω όριο του εύρους δυνατότητας μέτρησης μπορούν να αραιωθούν και να υποβληθούν εκ νέου σε δοκιμασία. Η νέα τιμή που λαμβάνεται πολλαπλασιάζεται, για τη λήψη του τελικού αποτελέσματος, με τον συντελεστή αραιώσης που χρησιμοποιήθηκε.

#### ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Για τη διασφάλιση της εγκυρότητας του προσδιορισμού, οροί ελέγχου με διαφορετικά επίπεδα συγκέντρωσης (τουλάχιστον ένας αρνητικός ορός και ένας θετικός ορός) πρέπει να μετρώνται κάθε ημέρα κατά την οποία εκτελείται ο προσδιορισμός.

Αν το εργαστήριό σας απαιτεί, για την επαλήθευση των αποτελεσμάτων του προσδιορισμού, μια συχνότερη χρήση ή έναν πιο αυξημένο αριθμό μαρτύρων, ακολουθήστε τις διαδικασίες του ελέγχου ποιότητας που είναι καθιερωμένες εκεί.

Αν χρησιμοποιούνται οι οροί ελέγχου ZENIT RA, οι μέσες αναμενόμενες τιμές και τα όρια του εύρους αποδοχής είναι εκείνα που αναφέρονται στο DATA DISK που υπάρχει και στη συσκευασία των μαρτύρων.

Αν χρησιμοποιούνται διαφορετικοί οροί ελέγχου, είναι απαραίτητο, πριν από την πρώτη τους χρήση, να προσδιορίσετε τις αναμενόμενες τιμές με τα αντιδραστήρια και το σύστημα ZENIT RA.

Αν η τιμή των μαρτύρων δεν εμπίπτει στο εύρος αποδοχής που προσδιορίζεται, τα σχετικά αποτελέσματα του προσδιορισμού δεν είναι έγκυρα και τα αντίστοιχα δείγματα πρέπει να αναλυθούν εκ νέου.

Σε αυτήν την περίπτωση είναι αναγκαίο να εκτελέσετε πριν την επανάληψη του προσδιορισμού μια διαδικασία επαναβαθμονόμησης.

## ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

### Υπολογισμός των αποτελεσμάτων

Η συγκέντρωση των αντισωμάτων IgG αντι-γλιαδίνης που υπάρχει στο εξεταζόμενο δείγμα υπολογίζεται αυτόματα από το σύστημα. Οι τιμές μπορούν να απεικονιστούν μέσω ανάγνωσης στο βίντεο ή μέσω εκτύπωσης.

Οι συγκεντρώσεις εκφράζονται σε UA/mL.

Ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της προσδιοριζόμενης ουσίας στο δείγμα γίνεται μέσω ανάγνωσης της απάντησης που λαμβάνεται για κάθε δείγμα σε μια καμπύλη βαθμονόμησης που υποβάλλεται σε επεξεργασία μέσω ενός συστήματος λογιστικού "fitting" με τέσσερις παραμέτρους (4PL, σταθμισμένο Y), που διορθώνεται περιοδικά ανάλογα με τις απαντήσεις που λαμβάνονται στον προσδιορισμό των βαθμονομητών.

Για λεπτομερείς πληροφορίες σχετικά με τον τρόπο με τον οποίο το σύστημα υπολογίζει τα αποτελέσματα, συμβουλευτείτε το εγχειρίδιο λειτουργίας του συστήματος.

### Ερμηνεία των αποτελεσμάτων

Το εύρος της δυνατότητας μέτρησης του προσδιορισμού *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG* είναι: 0,0 – 200 UA/mL.

Οι κατώτερες τιμές από 0,0 UA/mL είναι συναγόμενες τιμές και μπορούν να αναφερθούν ως "ίσες με 0,0 UA/mL".

Οι τιμές πάνω από 200 UA/mL μπορούν να αναφερθούν ως "άνω των 200 UA/mL", ή να υποβληθούν σε εκ νέου δοκιμασία μετά από κατάλληλη αραίωση.

Τα αποτελέσματα των δειγμάτων μπορούν να ερμηνευτούν με τον ακόλουθο τρόπο:

| (UA/mL) | Ερμηνεία                                                                     |
|---------|------------------------------------------------------------------------------|
| < 10    | Το δείγμα πρέπει να θεωρηθεί ως αρνητικό για την παρουσία IgG αντι-γλιαδίνης |
| ≥ 10    | Το δείγμα πρέπει να θεωρηθεί ως θετικό για την παρουσία IgG αντι-γλιαδίνης   |

Οι παραπάνω αναφερόμενες τιμές πρέπει να θεωρούνται μόνο προτεινόμενες τιμές. Το κάθε εργαστήριο πρέπει να προσδιορίζει τα δικά του διαστήματα αναφοράς.

---

## ΟΡΙΑ ΤΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

---

Για διαγνωστικούς σκοπούς, τα αποτελέσματα που λαμβάνονται με το κιτ *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG* και το σύστημα αναλυτή *ZENIT RA* πρέπει να χρησιμοποιούνται από κοινού με τα άλλα κλινικά και εργαστηριακά στοιχεία που είναι στη διάθεση του ιατρού.

Η βακτηριακή μόλυνση των δειγμάτων και η απενεργοποίηση στη θερμότητα μπορούν να επηρεάσουν το αποτέλεσμα του προσδιορισμού.

Τα ετερόφιλα αντισώματα που υπάρχουν στα δείγματα ανθρώπινου ορού μπορούν να αντιδράσουν με τα αντιδραστήρια με βάση ανοσοσφαιρίνες, προκαλώντας παρεμβολές στους ανοσολογικούς προσδιορισμούς *in vitro*. Αυτά τα δείγματα μπορούν να δώσουν μη φυσιολογικές τιμές αν αναλυθούν με το κιτ *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG*.

---

## ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΕΣ ΤΙΜΕΣ

---

Αναλύθηκαν τα δείγματα 100 δοτών που επιλέχθηκαν τυχαία για την επαλήθευση της παρουσίας των αντισωμάτων IgG αντι-γλιαδίνης.

Από αυτά τα δείγματα 1 προέκυψε θετικό και 99 αρνητικά, με μια μέση τιμή 1,2 UA/mL και μια τυπική απόκλιση 1,54 UA/mL.

Με τα αποτελέσματα που ελήφθησαν υπολογίστηκε το "Limit of Blank" (LoB = η υψηλότερη τιμή που μπορούμε να αναμένουμε σε μια σειρά δειγμάτων που δεν περιέχουν την προσδιοριζόμενη ουσία). Το "Limit of Blank", που προσδιορίστηκε ως το 95<sup>ο</sup> εκατοστημόριο του αρνητικού πληθυσμού, προέκυψε ίσο με 3,7 UA/mL με την Παρτίδα αντιδραστηρίων αρ. 2.

---

## ΚΛΙΝΙΚΗ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΗΤΑ

---

Ένα σύνολο 62 δειγμάτων ατόμων με κοιλιοκάκη στην πρώτη διάγνωση, τα οποία επαληθεύτηκαν από την ιστολογική εξέταση και 104 δείγματα από άτομα χωρίς κοιλιοκάκη (60 δότες, 30 ασθενείς με φλεγμονώδεις και λειτουργικές εντερικές παθήσεις και 14 ασθενείς με έλλειμμα IgA) υποβλήθηκαν σε δοκιμασία με το κιτ *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG*. Όλα τα δείγματα με κοιλιοκάκη, οι 60 δότες και οι 30 ασθενείς με φλεγμονώδεις και λειτουργικές εντερικές παθήσεις παρουσίαζαν μια συγκέντρωση ολικών IgA, προσδιοριζόμενη με ανοσονεφελομετρικό τρόπο, που περιλαμβάνεται στο εύρος του φυσιολογικού. Τα δείγματα με έλλειμμα IgA παρουσίαζαν μια συγκέντρωση ολικών IgA, προσδιοριζόμενη με ανοσονεφελομετρικό τρόπο, μικρότερη από 5 mg/dL.

Από τον θεωρούμενο ως αρνητικό πληθυσμό (χωρίς κοιλιοκάκη) που μελετήθηκε, 4 δείγματα (3 που ανήκαν στην ομάδα με εντερικές παθήσεις και 1 στην ομάδα με έλλειμμα IgA) προέκυψαν θετικά και 100 δείγματα προέκυψαν αρνητικά:

- **Διαγνωστική ειδικότητα: 96,2 %**

Από τον θεωρούμενο ως θετικό πληθυσμό (με κοιλιοκάκη) που μελετήθηκε, 17 δείγματα προέκυψαν αρνητικά και 45 δείγματα προέκυψαν θετικά:

- **Διαγνωστική ευαισθησία: 72,6 %**

Με βάση τα αποτελέσματα διαγνωστικής ειδικότητας και ευαισθησίας, η **διαγνωστική συμφωνία είναι 87,3 %**.

Αναλύθηκαν επίσης 8 δείγματα ασθενών με κοιλιοκάκη στην πρώτη διάγνωση με έλλειμμα IgA: Προέκυψαν όλα θετικά για αντισώματα αντι-γλιαδίνης IgG.

## ΑΠΟΔΟΣΕΙΣ

Προειδοποίηση: Τα παρουσιαζόμενα στοιχεία δεν αντιπροσωπεύουν τις προδιαγραφές της λειτουργίας του κιτ, αλλά αποτελούν πειραματική ένδειξη του πώς λειτουργεί το κιτ εντός τέτοιων προδιαγραφών με τον προβλεπόμενο από τον κατασκευαστή τρόπο.

### Ακρίβεια και Επαναληψιμότητα

Η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα του κιτ *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG* αξιολογήθηκαν με χρήση ενός πρωτοκόλλου με βάση τις κατευθυντήριες γραμμές του εγγράφου EP5-A2 των Clinical and Laboratory Standards (CLSI).

Η **ακρίβεια** υπολογίστηκε αναλύοντας τα αποτελέσματα 20 επαναλήψεων τεσσάρων ορών (έναν αρνητικό και τρεις θετικούς με διαφορετικές συγκεντρώσεις IgG αντι-γλιαδίνης) που εκτελέστηκαν με δύο διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων στην ίδια πειραματική συνεδρία.

Η συγκέντρωση του ορού που ήταν αρνητικός για IgG αντι-γλιαδίνης (LOB1) προέκυψε στο εύρος από 1,4 έως 2,3 UA/mL και από 1,4 έως 3,1 UA/mL αντίστοιχα με την παρτίδα αντιδραστηρίων αρ. 1 και αρ. 2.

Στον Πίνακα αναγράφονται τα αποτελέσματα που λαμβάνονται με τους 3 θετικούς ορούς.

| Δείγμα | Αντιδραστήρια<br>Αρ. παρτίδας | Μέση<br>συγκέντρωση<br>(UA/mL) | SD   | CV % |
|--------|-------------------------------|--------------------------------|------|------|
| P1     | 1                             | 18,1                           | 0,55 | 3,0  |
|        | 2                             | 21,3                           | 0,93 | 4,4  |
| P2     | 1                             | 32,2                           | 0,72 | 2,2  |
|        | 2                             | 36,1                           | 0,79 | 2,2  |
| P3     | 1                             | 62,8                           | 1,66 | 2,6  |
|        | 2                             | 71,6                           | 1,45 | 2,0  |

Η **επαναληψιμότητα** υπολογίστηκε αναλύοντας τα αποτελέσματα του προσδιορισμού τεσσάρων ορών (ένος αρνητικού και τριών θετικών με διαφορετικές συγκεντρώσεις αντι-γλιαδίνης IgG) που εκτελέστηκε εις απλούν με δύο διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων σε 15 διαφορετικές συνεδρίες.

Η συγκέντρωση του ορού που ήταν αρνητικός για IgG αντι-γλιαδίνης (N4) προέκυψε στο εύρος από 0,0 έως 1,1 UA/mL και από 0,0 έως 1,0 UA/mL αντίστοιχα με την παρτίδα αντιδραστηρίων αρ. 1 και αρ. 2.

Στον Πίνακα αναγράφονται τα αποτελέσματα που λαμβάνονται με τους 3 θετικούς ορούς.

| Δείγμα | Αντιδραστήρια<br>Αρ. παρτίδας | Μέση<br>συγκέντρωση<br>(UA/mL) | SD   | CV % |
|--------|-------------------------------|--------------------------------|------|------|
| P1     | 1                             | 19,9                           | 0,98 | 4,9  |
|        | 2                             | 21,4                           | 1,05 | 4,9  |
| P2     | 1                             | 36,5                           | 1,91 | 5,2  |
|        | 2                             | 38,9                           | 1,86 | 4,8  |
| P3     | 1                             | 68,4                           | 4,67 | 6,8  |
|        | 2                             | 70,7                           | 4,00 | 5,7  |

#### Γραμμικότητα των αραιώσεων

Η γραμμικότητα των αραιώσεων του kit *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG* αξιολογήθηκε με χρήση ενός πρωτοκόλλου με βάση τις κατευθυντήριες γραμμές του εγγράφου EP6-A των Clinical and Laboratory Standards (CLSI).

Προσδιορίστηκαν κλιμακούμενες αραιώσεις 3 ορών υψηλής συγκέντρωσης IgG αντι-γλιαδίνης, που εκτελέστηκαν με το Διαλύτη δειγμάτων.

Τα αποτελέσματα αυτής της μελέτης ανακεφαλαιώνονται στον ακόλουθο πίνακα.

| Δείγμα | Συντελεστής<br>αραίωσης | Μετρηθείσα<br>συγκέντρωση<br>(UA/mL) | Αναμενόμενη<br>συγκέντρωση<br>(UA/mL) | Ανάκτηση % |
|--------|-------------------------|--------------------------------------|---------------------------------------|------------|
| 1      | 1                       | 83,2                                 | -                                     | (100)      |
|        | 2                       | 43,7                                 | 41,6                                  | 105,0      |
|        | 4                       | 22,8                                 | 20,8                                  | 109,6      |
|        | 8                       | 11,5                                 | 10,4                                  | 110,6      |
|        | 16                      | 6,0                                  | 5,2                                   | 115,4      |
| 2      | 1                       | 91,0                                 | -                                     | (100)      |
|        | 2                       | 44,1                                 | 45,5                                  | 96,9       |
|        | 4                       | 23,1                                 | 22,7                                  | 101,8      |
|        | 8                       | 11,9                                 | 11,4                                  | 104,4      |
|        | 16                      | 6,4                                  | 5,7                                   | 112,3      |
| 3      | 1                       | 100,1                                | -                                     | (100)      |
|        | 2                       | 38,2                                 | 50,0                                  | 76,4       |
|        | 4                       | 20,4                                 | 25,0                                  | 81,6       |
|        | 8                       | 10,6                                 | 12,5                                  | 84,8       |
|        | 16                      | 5,6                                  | 6,3                                   | 88,9       |

Σε κάθε περίπτωση καθίσταται απαραίτητο να υπογραμμιστεί ότι δεν μπορούν όλοι οι οροί, όταν μετρώνται σε διαφορετικές αραιώσεις, να παρέχουν γραμμικά αποτελέσματα στο εσωτερικό του εύρους της

δυνατότητας μέτρησης, καθώς το αποτέλεσμα εξαρτάται όχι μόνο από τη συγκέντρωση αλλά και από τη συγγένεια των αντισωμάτων που υπάρχουν στο δείγμα.

#### Ευαισθησία της ανάλυσης

Η ευαισθησία της ανάλυσης του kit *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG*, εκφρασμένη ως **όριο ανίχνευσης** (*Limit of Detection – LoD*: δηλ. η μικρότερη ποσότητα προσδιοριζόμενης ουσίας που η μέθοδος είναι σε θέση να μετρήσει) αξιολογήθηκε χρησιμοποιώντας ένα πρωτόκολλο με βάση τις κατευθυντήριες γραμμές του εγγράφου EP17-A των Clinical and Laboratory Standards (CLSI) και τον τύπο υπολογισμού  $LoD = LoB + C_{\beta} SD_s$  (όπου  $LoB$  παριστά την τιμή του “Limit of Blank”,  $SD_s$  την εκτιμώμενη τυπική απόκλιση της κατανομής του δείγματος χαμηλής συγκέντρωσης και  $C_{\beta}$  απορρέει από το 95° εκατοστημόριο της τυπικής καυκασιανής κατανομής).

Χρησιμοποιήθηκαν 4 δείγματα χαμηλής συγκέντρωσης προσδιοριζόμενης ουσίας, προσδιορισμένα εις απλούν με δύο διαφορετικές παρτίδες αντιδραστηρίων σε 15 διαφορετικά πειράματα.

Το όριο ανίχνευσης του kit *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG* προέκυψε ίσο με 6,0 UA/mL.

Οι τιμές του ορίου ανίχνευσης, μαζί με ζητήματα κλινικού χαρακτήρα και αποτελέσματα σύγκρισης με μεθόδους αναφοράς συνέβαλλαν στον προσδιορισμό της τιμής αποκοπής (cut-off).

#### Ειδικότητα της ανάλυσης: Παρεμβολές

Μία μελέτη που βασίστηκε στις κατευθυντήριες γραμμές του εγγράφου EP7-A2 των CLSI κατέδειξε ότι οι αποδόσεις του προσδιορισμού δεν επηρεάζονται από την παρουσία των δυνητικών ουσιών παρεμβολής που αναγράφονται στον ακόλουθο πίνακα, έως τη συγκέντρωση του πειράματος.

| Δυνητικές ουσίες παρεμβολής | Μέγιστη συγκέντρωση του πειράματος |
|-----------------------------|------------------------------------|
| Ελεύθερη χολερυθρίνη        | 20 mg/dL                           |
| Συζευγμένη χολερυθρίνη      | 28 mg/dL                           |
| Αιμοσφαιρίνη                | 1.000 mg/dL                        |
| Λιπαρά οξέα                 | 3.000 mg/dL                        |

Αντενδείκνυται ωστόσο η χρήση λιπαιμικών δειγμάτων, δειγμάτων με αιμόλυση ή θολών δειγμάτων.

#### Ειδικότητα της ανάλυσης: Διασταυρούμενες αντιδράσεις

Για την αξιολόγηση των δυνητικών διασταυρούμενων αντιδράσεων του αντιγόνου, που χρησιμοποιείται για την ευαισθητοποίηση των μαγνητικών σωματιδίων, διεξήχθη μια μελέτη με 22 δείγματα, όλα με υψηλά επίπεδα άλλων αυτοαντισωμάτων και αρνητικά για IgG αντι-γλιαδίνης.

Τα χρησιμοποιούμενα δείγματα υποδιαιρέθηκαν ως εξής: SS-A (2), SS-B (3), U1-snRNP (1), Jo-1 (2), Scl-70 (3), dsDNA (3), Cern B (2), Ιστόνες (2), Πυρηνικά (1), MPO (1), PR3 (1) και CCP (1).

Η μελέτη δεν έδειξε καμία σημαντική διασταυρούμενη αντίδραση του αντιγόνου σε στερεά φάση με τα άλλα αυτοαντισώματα.

### Επίδραση κορεσμού σε υψηλές δόσεις

Μερικές ανοσολογικές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των δειγμάτων που περιέχουν την προσδιοριζόμενη ουσία σε εξαιρετικά υψηλές συγκεντρώσεις μπορεί να δώσουν φαινομενικά επίπεδα προσδιοριζόμενης ουσίας χαμηλότερης τιμής (φαινόμενο hook).

Η μέθοδος που χρησιμοποιείται στο kit *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG*, όντας μια μέθοδος με δύο επωάσεις, δεν εμφανίζει αυτό το φαινόμενο.

Ένα δείγμα με εξαιρετικά υψηλή συγκέντρωση (άνωθεν του εύρους μέτρησης) IgG αντι-γλιαδίνης επιβεβαίωσε την απουσία επιπέδου "hook" έως τη συγκέντρωση των 1.970 UA/mL.

### Σχετική Ευαισθησία και Ειδικότητα

Η παρουσία αντισωμάτων IgG αντι-γλιαδίνης προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας το kit *ZENIT RA Deamidated Gliadin IgG* και μια μέθοδο προσδιορισμού ELISA του εμπορίου σε 135 δείγματα.

Τα δείγματα που αναλύθηκαν ανήκαν σε ασθενείς με κοιλιοκάκη στην πρώτη διάγνωση, ασθενείς με κοιλιοκάκη σε δίαιτα, άτομα με και χωρίς κοιλιοκάκη με έλλειμμα IgA και φυσιολογικούς ασθενείς.

9 δείγματα έδωσαν αντικρουόμενα αποτελέσματα μεταξύ του προσδιορισμού ZENIT RA και του προσδιορισμού του εμπορίου.

**Η σχετική συμφωνία** προέκυψε επομένως ότι είναι ίση με 93,3 % (126/135).

**Η σχετική ευαισθησία** προέκυψε ότι είναι ίση με 97,1 % (34/35).

**Η σχετική ειδικότητα** προέκυψε ότι είναι ίση με 92,0 % (92/100).

### BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Stern M, Cicilitira P, van Eckert R, Feighery C, Janssen FW, Mendez E, et al. Analysis and clinical effects of gluten in coeliac disease. *Eur J Gastroenterology Hepatol* 2001; 13:741-7.
2. Sollid LM, Thorsby E. HLA susceptibility genes in celiac disease: genetic mapping and role in pathogenesis. *Gastroenterology* 1993; 105:910-22.
3. Margaritte-Jeannin P, Babron MC, Bourgey M, Louka AS, Clot F, Percopo S, et al. HLA-DQ relative risk for celiac disease in European populations: a study of the European Genetics Cluster on Coeliac Disease. *Tissue Antigens* 2004; 63: 562-7.
4. Catassi C, Ratsch IM, Fabiani E, Rossini M, Bordicchia F, Candela F, et al. Coeliac disease in the year 2000: exploring the iceberg. *Lancet* 1994; 342:200-3.
5. Maki M, Mustalahti K, Kokkonen J, Kulmala P, Haapalahti M, Karttunen T, et al. Prevalence of coeliac disease among children in Finland. *N Engl J Med* 2003; 348: 2517-24.
6. Qiao SW, Bergseng E, Molberg O, Jung G, Fleckenstein B, Sollid LM. Refining the rules of gliadin T cell epitope binding to the disease-associated DQ2 molecule in celiac disease: importance of proline spacing and glutamine deamidation. *J Immunol* 2005; 175: 254-61.
7. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. *Nat Med* 1997; 3: 797-801.

8. Aleanzi M, Demonte AM, Esper C, Garcilazo S, Waggener M. Celiac disease: antibody recognition against native and selectively deamidated gliadin peptides. Clin Chem 2001; 47: 2023-8.
9. Schwertz E, Kahlenberg F, Sack U, Ritcher T, Stern M, Conrad K, et al. Serological assay based on gliadin-related nonapeptides as a highly sensitive and specific diagnostic aid in celiac disease. Clin Chem 2004; 50: 2370-5.
10. Latiff AH, Kerr MA. The clinical significance of immunoglobulin A deficiency. Ann Clin Biochem 2007; 44:131-9.
11. Cataldo F, Marino V, Ventura A, Bottaro G, Corazza GR, and the Italian Society of Pediatric Gastroenterology and Hepatology ( SIGEP ) and “ Club del Tenue “ working groups on celiac disease. Prevalence and clinical features of selective immunoglobulin A deficiency in coeliac disease : an Italian multicentre study. Gut 1998; 42: 362-5.
12. Roston A, Dubè C, Cranney A, Saloojee N, Sy R, Garritty C, et al. The diagnostic accuracy of serological test for celiac disease : a systematic review. Gastroenterology 2005; 128:S38-46.
13. Tonutti E, Visentini D, Bizzaro N, Caradonna M, Cerni L, Villalta D, et al. The role of anti-tissue transglutaminase assay for the diagnosis and monitoring of celiac disease : a French-Italian multicentre study. J Clin Pathol 2003; 56:389-93.
14. Berger R, Schimdt G. Evaluation of six anti-gliadin antibody assays. J Immunol Methods 1996; 191:77-86.
15. Basso D, Guariso G, Fogar P, Meneghel A, Zambon CF, Navaglia F, et al. Antibodies against syntetic deamidated gliadin peptides for celiac disease diagnosis and follow up in children. Clin Chem 2009; 55: 150-7
16. Tonutti E, Visentini D, Picierno A, Bizzarro N, Villalta D, Bozzoli R, et al. Diagnostic efficacy of the ELISA tests for the detection of deamidated anti gliadin antibodies in the diagnosis and monitoring of celiac disease. J Clin Lab Anal. 2009; 23(3): 172-4.



**TECHNOGENETICS S.r.l.**  
Viale Casiraghi 471  
20099 – Sesto San Giovanni (MI)  
Italia

## GREECE

**Διανέμεται στην ΕΛΛΑΔΑ από την**  
**MENARINI ΔΙΑΓΝΩΣΤΙΚΑ ΙΑΤΡΙΚΑ ΟΡΓΑΝΑ ΑΕΒΕ**  
Λ. Βουλιαγμένης 575- 16451 Αργυρούπολη – Αθήνα  
Τηλ.: +30 210 9944952 - Φαξ: +30 210 9945029  
Γραμμή Εξυπηρέτησης Διαβήτη: 801 11 44400  
[www.menariniagnostics.gr](http://www.menariniagnostics.gr) - e-mail: [mendiagr@otenet.gr](mailto:mendiagr@otenet.gr)