

(Tissue Transglutaminase)

Nur für "In-Vitro Diagnostik"

CLIA Kompliziertheit: Hoch

## Verwendungszweck

QUANTA Lite™ tTG ist ein „Enzyme-linked Immunosorbent Assay“ (ELISA) für die semi-quantitative Bestimmung von IgA Antikörper gegen Gewebettransglutaminase (Endomysium) im Humanserum. Die Bestimmung dieser Antikörper gegen tTG unterstützt mit anderen serologischen Nachweisen und der Beurteilung des klinischen Bildes die Diagnostik des gluteninduzierten Enteropathien wie Zöliakie und Dermatitis herpetiformis.

## Informationen zum Test

Zöliakie und Dermatitis herpetiformis, zwei Formen der gluteninduzierten Enteropathie (GSE), sind charakterisiert durch chronische Entzündungen der intestinalen Mucosa und durch eine Zottenatrophie.<sup>1,2</sup> Intoleranz gegenüber Gluten, ein Protein, das in Weizen, Roggen und Gerste vorkommt, verursacht GSE. Die Erkrankung kann asymptomatisch verlaufen oder es können folgende Symptome auftreten: Diarrhöe, Malabsorption, Anämie, Müdigkeit, psychiatrische Probleme und bei Kindern sogar eine Wachstumsretardation.<sup>2</sup> Dermatitis herpetiformis ist eine Hauterkrankung assoziiert mit GSE. Alle GSE Patienten haben ein erhöhtes Risiko, an einem Lymphom zu erkranken.<sup>3</sup> GSE wird durch eine glutenfreie Diät behandelt, wodurch sich die Risiken minimieren lassen.

In den 50er Jahren konnte nachgewiesen werden, dass Gluten Zöliakie verursacht und somit war ein Behandlung ermöglicht, nämlich die Patienten einer gluten-freien Diät zu unterziehen. Mit Hilfe der oralen Darmbiopsie war es den Ärzten möglich, das Ausmaß der Zottenatrophie zu beurteilen. Während eine positive Zottenatrophie auch bei anderen Krankheiten vorkommen kann, wird GSE mit Hilfe nach-folgender Kriterien der European Society for Pediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN) festgelegt. Diese Kriterien erfordern aufwendige Studien von annähernd einem Jahr:

a) eine zu Beginn positive Darmbiopsie, b) sechs Monate glutenfreie Diät, c) eine zweite negative Darmbiopsie, d) eine Provokation mit Gluten über sechs Monate, e) eine dritte positive Darmbiopsie.

Die Entwicklung von Serumtesten für drei verschiedene Antikörper der Immunglobulinklasse IgA<sup>3</sup> ermöglichte 1990 eine überarbeitete Version der ESPGAN Kriterien für Zöliakie.<sup>2</sup> Diese Tests beinhalten die Bestimmung von endomysialen IgA Antikörpern (EMA),<sup>4</sup> Anti-Gliadin-Antikörpern IgA (AGA) sowie R1 Anti-Retikulin Antikörper (ARA). Die überarbeiteten ESPGAN Kriterien fordern:

a) eine einzige positive Darmbiopsie, b) den positiven Nachweis von zumindest zwei der drei oben erwähnten IgA Antikörper. Seither haben verschiedene Studien gezeigt, daß IgA-EMA Tests bei GSE eine Spezifität von über 99% erzielen und eine größere Sensitivität als ARA oder AGA Tests erbringen.<sup>5-13</sup> IgA-EMA Antikörper verschwinden, sobald sich Patienten mit Zöliakie oder Dermatitis herpetiformis an eine glutenfreie Diät halten. Deshalb werden diese Antikörper auch dazu verwendet, um den Patienten auf die Einhaltung seiner Diät zu überprüfen.<sup>4,5,12</sup>

Vor kurzem konnte das endomysiale Antigen als Gewebe-Transglutaminase (tTG) identifiziert werden.<sup>14,15</sup> Antigen-spezifische ELISA-Tests unter Verwendung von tTG bieten eine zuverlässige, objektive Alternative zum herkömmlichen Immunfluoreszenz-Test. Bei diesem Test werden dünne Schnitte vom Primaten-Ösophagus als Substrat verwendet. Der ELISA Test kann sowohl bei einer großen als auch kleinen Anzahl von Patientenproben angewendet werden.

## Testprinzip

Gewebettransglutaminase-Antigen, gereinigt aus Meerschweinchenleber, wird an die Kavitäten einer Mikrotiterplatte unter Bedingungen, die das Antigen in ihrer nativen Struktur erhalten, gebunden. Vorverdünnte Kontrollen und verdünnte Patientenserum werden in verschiedene Kavitäten pipettiert. Die vorhandenen tTG Antikörper binden an das Antigen. Der Rest der Probe/Kontrolle wird durch Waschen entfernt. Enzymmarkiertes anti-humanes IgA wird in die Kavitäten pipettiert und bindet während einer zweiten Inkubation an den Patienten-Antikörper. Nachdem in einem weiteren Waschschriff das restliche Konjugat entfernt worden ist, wird ein Chromogen-Substrat zugegeben. Die Intensität der entstandenen Farbreaktion wird nach dem Abstoppen mit dem Mikrotiterplatten-Photometer gemessen. Die quantitative Auswertung erfolgt durch einen Vergleich der Extinktionswerte der Patienten mit dem Wert eines Kalibrators.

## Inhalt der Testpackung

1. Mikrotiter-ELISA-Platte beschichtet mit hochgereinigtem tTG Antigen (12-1 x 8 Kavitäten), mit Streifenhalter in Folienverpackung und Trockenmittel
2. ELISA Negative Kontrolle, 1 Flasche Puffer mit Stabilisator und Humanserum ohne humane Antikörper gegen tTG, gebrauchsfertig vorverdünnt, 1,2 mL
3. tTG ELISA Low Positive (Kalibrator), 1 Flasche Puffer mit Stabilisator und Humanserum mit Antikörpern gegen tTG, gebrauchsfertig vorverdünnt, 1,2 mL
4. tTG ELISA High Positive (positive Kontrolle), 1 Flasche Puffer mit Stabilisator und Humanserum mit Antikörpern gegen tTG, gebrauchsfertig vorverdünnt, 1,2 mL
5. HRP Probenverdünner, 1 Flasche – rosa gefärbt mit Tris-gepufferter Kochsalzlösung, Tween 20, Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, 50 mL
6. HRP Waschkonzentrat, 1 Flasche mit 40fachem Konzentrat – rot gefärbt mit gepufferter Kochsalzlösung und Tween 20, 25 mL. Zur Verdünnung bitte das entsprechende Kapitel in der Anleitung beachten.

7. HRP IgA Konjugat, (Ziege), anti-humanes IgA, 1 Flasche – gelb gefärbt mit Puffer, Proteinstabilisatoren und Konservierungsmittel, 10 mL
8. TMB Chromogen, 1 Flasche mit Stabilisatoren, 10 mL
9. HRP Stopplösung, 0,344M Schwefelsäure, 1 Flasche – farblos, 10 mL

## Hinweise

1. VORSICHT: Probenverdünner, Kontrollen und Konjugat enthalten 0,02% Chloramphenicol. Es ist im US-Bundesstaat Kalifornien und allgemein bekannt, daß dieser Stoff Krebs verursachen kann.
2. Alle Reagenzien für die Herstellung dieses Tests wurden auf Antikörper gegen HIV, HBsAg und HCV getestet und für negativ befunden. Dennoch sollten alle humanen Kontrollen wie potentiell infektiöses Humanserum oder Blutproben behandelt werden.<sup>16</sup>
3.  $\text{NaN}_3$  wird als Stabilisator verwendet.  $\text{NaN}_3$  ist ein Giftstoff und kann bei Einnahme toxische Reaktionen verursachen. Vorsichtig handhaben und Kontakt mit Augen und Haut vermeiden! Den Kontakt mit Metall, basischen Stoffen oder anderen Komponenten, die mit Säure reagieren können, vermeiden. Bei der Entsorgung von Reagenzien ist daher mit viel Leitungswasser nachzuspülen, um Ansammlungen im Abwassersystem zu verhindern.
4. Das HRP Konjugat enthält eine verdünnte Chemikalie, die bei Einnahme toxisch wirken kann. Daher den Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.
5. Das TMB Chromogen enthält ein Reizmittel, das bei Inhalation, Einnahme oder Absorption durch die Haut gesundheitliche Schäden verursachen kann. Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.
6. Die HRP Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure. Den Kontakt mit Basen, Metallen und anderen Stoffen, die mit Säure reagieren können, vermeiden. Schwefelsäure ist ein Giftstoff und kann bei Einnahme toxische Reaktionen hervorrufen. Den Kontakt mit Haut und Augen vermeiden.
7. Die vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung während der Arbeit mit Reagenzien tragen.
8. Verschüttete Reagenzien sofort beseitigen. Bei der Entsorgung von Abfällen alle Umweltvorschriften beachten.

## Vorsichtsmaßnahmen

1. Dieser Test ist für "In-Vitro Diagnostik".
2. Die Verwendung anderer als im Testkit vorhandenen Komponenten kann zu widersprüchlichen Ergebnissen führen.
3. Unvollständiges Waschen und ungenügendes Entfernen der Flüssigkeiten aus den ELISA Kavitäten führt zu einer schlechten Präzision und zu hohen Hintergrund-Extinktionen.
4. Die Adaptation dieses Testsystems auf automatische Probenverarbeitung und andere Instrumentierung, ganz oder teilweise, kann unterschiedliche Ergebnisse zur manuellen Durchführung ergeben. Es liegt in der Verantwortung eines jeden Labors, die automatische Bearbeitung so zu überprüfen, daß Testergebnisse innerhalb akzeptabler Bereiche erzielt werden.
5. Eine Reihe von Faktoren beeinflusst das Testergebnis. Hierzu zählen die Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Pipettierung, der Typ des verwendeten Photometers, die Temperatur der Reagenzien, die Umgebungs-Temperatur, die Gründlichkeit des Waschens und der Entfernung der Flüssigkeiten aus den Vertiefungen der ELISA-Streifen, und die Einhaltung der Inkubationszeiten. Es ist deshalb sehr wichtig, für gleichbleibende Bedingungen zu sorgen.
6. Die strikte Einhaltung der Testprozedur wird empfohlen. Jede Änderung im Protokoll erfolgt auf Risiko des Anwenders.
7. Das unvollständige Verschließen der Mikrotiterkavitäten und des Trockenmittels führt zu Antigenabbau und schlechter Präzision.
8. Eine unakzeptabel niedrige Absorption kann beobachtet werden, wenn eine Flasche HRP Konjugat bei **zwei-** oder mehrfachem Gebrauch über einen längeren Zeitraum benutzt wird. Daher ist es wichtig, die Hinweise zum Umgang mit dem HRP Konjugat genau zu beachten.
9. Chemische Kontamination des HRP Konjugates kann durch unzureichendes Reinigen oder Spülen der Ausrüstung oder der Instrumente verursacht werden. Rückstände gebräuchlicher Laborchemikalien wie z.B. Formalin, Bleichmittel, Ethanol oder Spülmittel führen zum Abbau des HRP Konjugates im Verlauf der Zeit. Das gründliche Spülen der gesamten Ausrüstung und Instrumentierung nach Verwendung chemischer Reinigungsmittel ist daher unbedingt erforderlich.

## Lagerung

1. Lagerung aller Kit-Reagenzien bei 2-8°C. Nicht einfrieren. Die Reagenzien sind stabil bis zum Ende des Haltbarkeitsdatums bei vorschriftsmäßiger Lagerung und Handhabung.
2. Nicht verwendete Mikrotiterstreifen wieder in die Originalverpackung geben, luftdicht verschließen und in den Kühlschrank zurücklegen.
3. Der verdünnte Waschpuffer ist bei 2-8°C eine Woche stabil.

## Proben

Die Testdurchführung sollte mit Serumproben erfolgen. Werden Azide oder andere Stabilisatoren zu den Serumproben gegeben, können die Ergebnisse nachteilig beeinflusst werden. Mikrobiell kontaminierte, hämolytische, lipämische oder durch Hitzeeinwirkung inaktivierte Proben sollten nicht verwendet werden.

Nach der Blutentnahme ist das Serum vom Blut zu trennen. Das NCCLS Dokument H18-A empfiehlt die folgenden Lagerungsbedingungen für Patientenproben: 1) Proben bei Raumtemperatur nicht länger als 8 Stunden lagern. 2) Kann die Testdurchführung nicht innerhalb von 8 Stunden erfolgen, die Proben bei 2-8°C kühl lagern. 3) Kann die Testdurchführung nicht innerhalb von 48 Stunden erfolgen ist die Probe bei -20°C oder niedriger einzufrieren. Eingefrorene Proben müssen nach dem Auftauen und vor der Testung gut geschüttelt werden.

## Testdurchführung

### In der Testpackung vorhandenes Material

- 1 tTG ELISA Mikrotiterplatte (12-1 x 8 Kavitäten), mit Streifenhalter
- 1 1,2 mL vorverdünnte ELISA Negative Kontrolle
- 1 1,2 mL vorverdünnte tTG ELISA Low Positive Kontrolle
- 1 1,2 mL vorverdünnte tTG ELISA High Positive Kontrolle
- 1 50 mL HRP Probenverdünner
- 1 25 mL HRP Waschkonzentrat, 40faches Konzentrat
- 1 10 mL HRP IgA Konjugat (von der Ziege), anti-humanes IgA
- 1 10 mL TMB Chromogen
- 1 10 mL HRP Stopplösung, 0,344M Schwefelsäure

### Zusätzliches benötigtes Material

- Pipetten für 5, 100, 200-300 und 500 µL
- Einmal-Pipettenspitzen
- Eppendorf-Reaktionsgefäße für die Serumverdünnung, 4 mL Volumen
- Distilliertes oder deionisiertes Wasser
- 1 L Gefäß für verdünntes HRP Waschkonzentrat
- Reader für Mikrotiterplatten mit 450 nm Filter (und 620 nm für eine bichromatische Messung)

## Methode

### Testvorbereitung

1. Alle Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur bringen (20-26°C) und gründlich mischen.
2. Den gesamten Inhalt (25 mL) des Waschkonzentrats mit 975 mL Aqua dest. mischen (1:40 Verdünnung). Die verdünnte Pufferlösung ist bei 2-8°C eine Woche stabil. Soll nicht die gesamte Mikrotiterplatte auf einmal verwendet werden, so können für einen Ansatz von 16 Kavitäten 2 mL Konzentrat mit 78 mL Aqua dest. gemischt werden.
3. Serumproben 1:101 verdünnen, indem 5 µL Serum mit 500 µL gebrauchsfertigem Probenverdünner gemischt werden. Verdünnte Proben sollen innerhalb von 8 Stunden getestet werden. Die tTG ELISA Low Positive Kontrolle, die tTG ELISA High Positive Kontrolle und die ELISA Negative Kontrolle **nicht verdünnen**.
4. Jeder Test benötigt zwei Kavitäten für jede der drei Kontrollen sowie eine oder zwei Kavitäten für die Patientenprobe (Es wird empfohlen, alle Proben in Doppelbestimmung anzusetzen, bis die erforderliche Präzision und Reproduzierbarkeit erreicht sind).

### Testdurchführung

1. **ALLE REAGENZIEN UND PATIENTENPROBEN AUF RAUMTEMPERATUR (20-26°C) BRINGEN.** Die entsprechende Anzahl Mikrotiterkavitäten abbrechen. Die Kavitäten im Rahmen befestigen. **Die unbenutzten Kavitäten wieder in die Originalverpackung geben, luftdicht verschließen und in den Kühlschrank zurücklegen, um Verdunstung zu minimieren.**
2. Je 100 µL der **gebrauchsfertigen** tTG ELISA Low Positive Kontrolle, der tTG ELISA High Positive Kontrolle, der ELISA Negative Kontrolle und der verdünnten Patientenproben in die entsprechenden Kavitäten pipettieren. Streifen abdecken und bei Raumtemperatur 30 Minuten inkubieren. Die Inkubationszeit beginnt nach Zugabe der letzten Probe.
3. Waschen: Den Inhalt aller Kavitäten absaugen. Die Kavitäten vollständig (200-300 µL) mit **verdünntem** HRP Waschpuffer füllen und dann gründlich absaugen. Diesen Waschschrift noch zweimal wiederholen (Insgesamt: drei Waschschriffe). Anschließend die Platte auf saugfähigem Papier ausklopfen, um restliche Waschflüssigkeit zu entfernen. Die Waschschriffe sind in der selben Reihenfolge wie die Pipettierschriffe durchzuführen.
4. 100 µL des HRP IgA Konjugates in jede Kavität geben. Sterile Pipetten verwenden! Nur das benötigte Volumen an Konjugat aus der Flasche entnehmen. **UNBENUTZTES KONJUGAT NICHT IN DIE FLASCHE ZURÜCKPIPETTIEREN. KONTAMINATIONSGEFAHR!!** Abgedeckte Streifen bei Raumtemperatur 30 Minuten inkubieren, wie in 2. beschrieben.
5. Waschen: Schritt Nr. 3 wiederholen.
6. 100 µL TMB Chromogen in jede Kavität geben. 30 Minuten **im Dunkeln** bei Raumtemperatur inkubieren.
7. 100 µL HRP Stopplösung in jede Kavität pipettieren. Bei der Hinzugabe der Stopplösung dieselbe Reihenfolge und Zeitplan wie bei der Hinzugabe des TMB Chromogens einhalten. Die Mikrotiterplatte vorsichtig schütteln.
8. Die optische Dichte (OD) jeder Kavität bei 450 nm innerhalb einer Stunde nach Abstoppen der Reaktion ablesen. Es wird eine bichromatische Messung mit 620 nm als Referenzwellenlänge empfohlen.

## Qualitätskontrolle

1. Die tTG ELISA Low Positive Kontrolle, die tTG ELISA High Positive Kontrolle und die ELISA Negative Kontrolle sollten bei jedem Testansatz mitgeführt werden, um sicher-zustellen, daß alle Reagenzien und der Testansatz insgesamt ordnungsgemäß funktionieren.
2. Da die tTG ELISA Low Positive Kontrolle, die tTG ELISA High Positive Kontrolle und die ELISA Negative Kontrolle vorverdünnt sind, entfällt der Verdünnungsschritt der Patientenproben für die Kontrollen.
3. Zusätzliche Kontrollen zur Qualitätssicherung können gemäß den Richtlinien nationaler oder internationaler Regulierungs- oder Akkreditierungsbehörden eingesetzt werden. Geeignete Kontrollen können aus Humanserum gewonnen und bei  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  gelagert werden.
4. Um sicher zu sein, daß alle Patientenwerte korrekt sind, müssen die nachfolgenden Kriterien erfüllt werden (Würden ein oder mehrere Kriterien nicht erfüllt, so ist das Ergebnis als ungültig zu betrachten und der Testansatz ist zu wiederholen).
  - a. Die Absorption der vorverdünnten tTG ELISA High Positive Kontrolle muß größer sein als die Absorption der vorverdünnten tTG ELISA Low Positive Kontrolle. Die Absorption der Low Positive Kontrolle wiederum muß größer sein als die der vorverdünnten ELISA Negativkontrolle.
  - b. Die Absorption der vorverdünnten tTG ELISA High Positive Kontrolle muß größer als 1,0 sein, die Absorption der vorverdünnten Negative Kontrolle darf nicht größer als 0,2 sein.
  - c. Die Absorption der tTG ELISA Low Positive Kontrolle muß mehr als doppelt so hoch sein wie die der ELISA Negative Kontrolle sein oder über 0,25.
  - d. Die ELISA Negative Kontrolle und die tTG ELISA High Positive Kontrolle dienen der Sicherstellung der ordnungsgemäßen Funktionsweise des Testansatzes. Die tTG ELISA High Positive Kontrolle stellt die Präzision am Cut-off des Tests nicht sicher.
  - e. Der Anwender sollte unter anderem das NCCLS Dokument Nr. C24-A für zusätzliche Hinweise zur zeitgemäßen Qualitätskontrolle beachten.

## Berechnung der Ergebnisse

Zunächst sind die Mittelwerte der OD für die Doppelbestimmungen zu berechnen. Alle weiteren Berechnungen werden dann mit den entsprechenden Mittelwerten durchgeführt. Die Reaktivität jeder Patientenprobe wird bestimmt durch die Division des Mittelwertes der Proben-OD durch den Mittelwert der Low Positive Kontrolle und der Multiplikation dieses Ergebnisses mit dem chargenspezifischen Wert der tTG ELISA Low Positive Kontrolle. Die chargenspezifischen Werte sind auf dem Fläschchenetikett aufgedruckt.

$$\text{Probenwert (Units)} = \frac{\text{OD der Probe}}{\text{tTG ELISA Low Positive Kontrolle OD Wert}} \times \text{tTG ELISA Low Positive Kontrollwert (Units)}$$

Die Reaktivität verhält sich zur Konzentration der vorhandenen Antikörper nicht linear. Zunahme und Abnahme der Antikörperkonzentrationen von Patienten werden durch einen entsprechenden Anstieg oder Abfall der Reaktivität angezeigt, diese Änderungen sind jedoch nicht proportional (d.h. eine Verdoppelung der Antikörperkonzentration führt nicht zu einer Verdoppelung der Reaktivität). Wird eine genauere Quantifizierung der Patientenantikörper gewünscht, sind serielle Verdünnungen der Probe durchzuführen und der Titer der zuletzt als positiv gemessen wurde, sollte als Patienten-Antikörpertiter bewertet werden.

## Interpretation der Ergebnisse

Dieser ELISA-Test ist sehr sensitiv und in der Lage, sogar kleine Unterschiede in Patientenpopulationen zu messen. Die folgenden Werte dienen als Beispiel für die Interpretation der Testergebnisse. Es wird empfohlen, daß sich jedes Labor seine eigenen Normalwerte, basierend auf eigener Technik, Kontrollen, Ausrüstung und Patientenpopulation erarbeitet.

Die Patientenprobe kann anschließend als negativ, schwach, deutlich positiv bis stark positiv klassifiziert werden.

	Units
Negativ	<20
Schwach positiv	20 – 30
Deutlich positiv zu Stark positiv	>30

1. Ein positives Ergebnis zeigt das Vorhandensein von tTG Antikörpern an und legt die Möglichkeit des gluteninduzierten Enteropathien wie Zöliakie und Dermatitis herpetiformis.
2. Ein negatives Ergebnis deutet auf das Nichtvorhandensein von tTG Antikörpern hin oder auf Konzentrationen unterhalb der Erfassungsgrenze des Testsystems.
3. Wir schlagen vor, die Laborergebnisse mit folgendem Hinweis zu versehen: „Die folgenden Ergebnisse wurden mit dem INOVA QUANTA Lite™ tTG ELISA erzielt. tTG Werte, die mit Testsystemen anderer Hersteller ermittelt wurden, können nicht untereinander ausgetauscht werden. Die Höhe des gefundenen IgA-Titers kann nicht mit einem Endpunkttiter in Korrelation gebracht werden.“

## Grenzen des Verfahrens

1. Immunkomplexe oder andere Immunoglobulin-Aggregate im Patientenserum können nicht-spezifische Bindungen und falsch-positive Ergebnisse hervorrufen.
2. Ein negatives tTG IgA Ergebnis bei einem unbehandelten Patienten schließt eine gluten-sensitive Enteropathie nicht aus. Dieses Ergebnis kann des öfteren durch eine selektive IgA-Defizienz erklärt werden, ein relativ häufiges Vorkommen bei der Zöliakie. INOVA anbietet einen h-tTG IgG Test für diese Patienten e QUANTA Lite™ h-tTG IgG ELISA.
3. Ergebnisse dieses Testes müssen im Zusammenhang mit klinischen Ergebnissen und anderen serologischen Tests verwendet werden.
4. Die Leistungscharakteristika für andere Untersuchungsmaterialien als Serum wurden nicht bestimmt.

## Erwartungswerte

Die Fähigkeit des QUANTA Lite™ tTG ELISA, IgA Gewebetransglutaminase Antikörper zu bestimmen, wurde im Vergleich eines Immunfluoreszenztests zur Bestimmung von endomysialen Antikörpern (EMA) mit dem Vergleich der Ergebnisse der aktuellen klinischen Diagnosen in drei externen und einer internen klinischen Evaluierung ermittelt.

### Normalbereich

Insgesamt 202 zufällig ausgewählte Seren wurden getestet. Die Gruppe bestand aus 106 Männern und 96 Frauen im Alter von 15 bis 72 Jahren. Nur zwei Proben (1%) waren positiv. Beide positiven Proben waren schwach reaktiv bei 21 bzw. 24 Units. Der Cutoff von 20 Units gilt sowohl bei pädiatrischen als auch Erwachsenenpopulationen.

## Relative Sensitivität und Spezifität

Insgesamt 99 Proben wurden sowohl im QUANTA Lite™ tTG ELISA als auch im indirekten Immunfluoreszenztest für Endomysial-Antikörper getestet. Die Ergebnisse sind nachfolgend zusammengefaßt:

Endomysiale Antikörper in der Immunofluoreszenz

		+	-		
QUANTA Lite™ tTG ELISA	+	64	2**	Relative Sensitivität	98,5%
	-	1*	32	Relative Spezifität	94,1%
				Relative Übereinstimmung	96,7%

\* Dieser Patient hatte einen endomysialen Titer von 1:2, war Gliadin IgA negativ und Gliadin IgG schwach positiv. Der Patient hatte Zöliakie, lebte aber mit glutenfreier Diät.

\*\* Beide Proben waren stark positiv für IgG und IgA Gliadin.

## Klinische Sensitivität und Spezifität

Der QUANTA Lite™ tTG ELISA Antikörper Testkit wurde in drei externen klinischen und einer internen klinischen Studie evaluiert. Die nachfolgende Tabelle faßt die Ergebnisse dieser Studie zusammen.

Patientengruppe	Anzahl	Anzahl pos.	(%)
Zöliakie	41	41	(100)
Diät-behandelt	10	1*	(10)
Dermatitis herpetiformis	8	8	(100)
Diät-behandelt	1	0	
Entzündliche Darmerkrank.	9	1**	(11)
GI-Erkrankungen (nicht Zöliakie)	20	0	
Pädiatrische Proben	58	0	
SLE	15	1	(6,6)
Normalseren	239	2***	(0,8)

\* Dieser positive Patient war auch endomysial positiv bei 1:10 und es war bekannt, daß er nicht vollständig die glutenfreie Diät einhielt.

\*\* Dieser Patient war endomysial positiv bei einem Titer von 1:40 und war auch positiv sowohl für IgA als auch IgG Antikörper gegen Gliadin.

\*\*\* Diese zwei Proben waren schwachpositiv mit 21 und 24 Units.

## Kreuzreaktivität

Der QUANTA Lite™ tTG ELISA Testkit wurde mit 25 Proben getestet, die hohe Werte von anderen Autoantikörpern wie ANA, dsDNA, ENA und anderen auswiesen. Keine Probe hat reagiert. Der durchschnittliche Wert dieser Gruppe betrug 5,2 Units mit einem Bereich von 2-13 Units.

## Präzision und Reproduzierbarkeit

Die Präzision und Reproduzierbarkeit des Tests wurde durch Messen einer negativ, einer schwach positiv und einer stark positiv Probe in sechs Wiederholungen in sechs verschiedenen Testansätzen ermittelt. Die mittlere Absorption der stark positiven Probe betrug 102,3, die der schwach positiven 50,1 und die der negativen 17,8. Die Standardabweichung (SD) und der Variationskoeffizient (VK) jeder Probe sind nachfolgend aufgeführt.

	Negativ		Stark positiv		Schwach positiv	
	SD	VK	SD	VK	SD	VK
Gesamt	0,69	3,9%	2,47	2,4%	1,53	3,1%
Intraassay	0,60	3,3%	2,40	2,4%	1,34	2,7%
Interassay	0,65	3,7%	1,78	1,7%	1,46	2,9%

## Referenzen

1. Meuweisse GW. Diagnostic criteria in celac disease. Acta Paediatr Scand 59:461, 1970.
2. Walker-Smith JA, Guandalini S, Schmitz J, Shmerling DH, Visakorpi JK. Revised criteria for diagnosis of celiac disease: Report of working group of Eurorpean Society of Pediatric Gastroenterology and Nutrition (ESPGAN). Arch Diseases of Childhood 65: 909-911, 1990.
3. Chorzelski TP, Beutner EH, Zalewski TK, et al. editors. Serologic diagnosis of celiac disease. Boca Raton (FL): CRC Press, 1990.
4. Chorzelski TP, Sulej J, Tcherzewska H, et al. IgA class endomysium antibodies in dermatitis herpetiformis and celiac disease. Ann NY Acad Sci 420: 325-334, 1983.
5. Volta U, Molinar N, De Franchis R, et al. Correlation between IgA antiendomysial antibodies and subtotal villous atrophy in dermatitis herpetiformis. J Clin Gastroenterol 14: 298-301, 1992.
6. Valdimarsson T, Franzen L, Grodzinsky E, Skogh T, Strom M. Is small bowel biopsy necessary in adults with suspected celiac disease and IgA anti-endomysial antibodies? 100% positive predictive value for celiac disease in adults. Digestive Diseases and Science 41: 83-87, 1996.
7. Unsworth FJ. Serologic diagnosis of gluten sensitive enteropathy. J Clin Path 49: 704-711, 1996.
8. Volta U, Molinaro M, Fusconi M, Cassani F, Bianchi FB. IgA antiendomysial antibody test: A step forward in celiac disease screening. Digestive Diseases and Science 36: 752-756, 1991.
9. Wilfang S, Knauss M, Stern M. IgA endomysiumantikörper. Montsschr Kinderkeilkd 140: 639-645, 1992.
10. Muscart-Lemone F, Van den Broek J, Cadranel S, Colombel JF. Serologic aspects of celiac disease. Acta Gastro-Enterologica Belgica 55:200-208, 1992.
11. Grodzinsky E, Hed J, Skogh T. IgA antiendomysium antibodies have a high predictive value for celiac disease in asymptomatic patients. Allergy 49: 593-597, 1994.
12. Sategna-Guidetti C, Pulitano R, Grosso S, Ferfaglia G. Serum IgA antiendomysium antibody titers as a marker of intestinal involvement and diet compliance in adult celiac sprue. J Clin Gastroenterol 17: 123-127, 1993.
13. Catassi C. Screening of coeliac disease. In: Maki M, Collin P, Visakorpi JK. editors. Coeliac disease. Tampere (Finland): Coeliac Disease Study Group; p. 23-33, 1997.
14. Dieterich W, Ehnis T, Bauer M, et al. Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. Nature Medicine 3: 797-801, 1997.
15. Sollid LM, Molberg O, McAdam S, Lundin K, et al. Autoantibodies in coeliac disease: tissue transglutaminase – guilt by association? Gut 41: 851-852, 1997.
16. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Center for Disease Control/National Institute of Health, 1999, 2007, Fifth Edition.

Hersteller:

INOVA Diagnostics, Inc.  
9900 Old Grove Road  
San Diego, CA 92131  
United States of America

Autorisierter Repräsentant:

Medical Technology Promedt Consulting GmbH  
Altenhofstrasse 80  
D-66386 St. Ingbert, Germany  
Tel.: +49-6894-581020  
Fax.: +49-6894-581021  
[www.mt-procons.com](http://www.mt-procons.com)

Technical Service  
628730DEU

888-545-9495  
October 2009  
Revision 7

