

NOTICE D'UTILISATION









IMMUNOQUICK[®] Filtration CELIAC IgA

Ref: 0518_K12









INSTRUCTION FOR USE

BioSynex
12, rue Ettore Bugatti – CS28006
67038 STRASBOURG Cedex - FRANCE
Tél. : +33 3 88 77 57 00 - Fax : +33 3 88 78 76 78
www.biosynex.com – info@biosynex.com

Liste des Symboles

	Attention, voir notice d'utilisation		Tests par coffret		Fabricant
	Pour diagnostic in vitro uniquement		Péremption		Usage unique
	Conserver entre 2-8°C		No. de lot	REF	Code produit

Index of Symbols

	Attention, see instructions for use		Tests per kit		Manufacturer
	For <i>in vitro</i> diagnostic use only		Use by		Do not re-use
	Store between 2-8°C		Lot Number	REF	Catalog #

Directive 98/79/CE

Version 04 – Mise à jour le 11/04/2011 ; Updated 2011/04/11

Fabriqué sous licence d'Eurospital S.p.A (Brevet européen EP 0912.898)

Manufactured under Eurospital S.p.A licence (European patent EP 0912.898)

BIO SYNEX
IMMUNODIAGNOSTIC


Fabricant /
Manufacturer

Fabricant / Manufacturer : BioSynex
12, RUE ETTORE BUGATTI – CS28006
67038 STRASBOURG CEDEX
www.biosynex.com – info@biosynex.com

IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA

Test rapide de détection des IgA dirigés contre la Transglutaminase tissulaire (tTG) humaine recombinante dans le sérum

Réf. N° : 0518_K12

Pour usage *in vitro* uniquement

1- OBJECTIF

IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA est un test d'immunofiltration qualitatif destiné à la détection des anticorps de type IgA dirigés contre la transglutaminase tissulaire (tTG) humaine recombinante dans le sérum humain.

2- INTRODUCTION

La maladie cœliaque (MC), décrite initialement par Samuel Gee en 1888 (1), est une maladie inflammatoire du tube digestif caractérisée par un syndrome de malabsorption intestinale déclenché par le gluten alimentaire. Au niveau de la muqueuse du grêle proximal, on note une atrophie villositaire totale ou subtotale, des lésions entérocytaires, une hyperlymphocytose intra-épithéliale, une hypertrophie cryptique. Ces lésions histologiques sont réversibles par un régime sans gluten (RSG) reposant sur la suppression de tous les aliments contenant l'une et/ou l'autre des 4 céréales toxiques (blé, orge, seigle et avoine) et leur substitution par d'autres céréales, en particulier le riz et le maïs (2); cette caractéristique fait partie de la définition même de la MC. La triade classique (diarrhée, amaigrissement et stéatorrhée) ne serait présente que chez 25 % des malades, probablement parce qu'il s'agit de symptômes tardifs dans l'histoire naturelle de cette maladie (3), (4) et les formes latentes ou paucisymptomatiques de la MC seraient les plus fréquentes (5), (6) La malabsorption peut également occasionner des manifestations ostéo-articulaires, neuromusculaires, génitales et cutanéomuqueuses chez la moitié des malades (7) avec un risque non négligeable de complications néoplasiques à long terme, notamment de lymphome malin non hodgkinien de l'intestin grêle (8), (9), (10).

Le diagnostic de la maladie cœliaque est confirmé par des anomalies de la biopsie de l'intestin grêle et par la réversibilité des symptômes lors de l'instauration d'un régime sans gluten. Environ 10% des patients, notamment les adultes, ont besoin d'un traitement corticoïdes en complément du régime sans gluten pour normaliser la muqueuse.

L'enzyme transglutaminase tissulaire (tTG) est décrite comme la principale, voire la seule, cible des anticorps anti endomysium. Le taux de ces anticorps chute lors de l'instauration d'un régime sans gluten, facilitant ainsi l'observance du traitement. Les anticorps anti transglutaminase tissulaire (tTG) IgA sont des marqueurs hautement sensibles (95-100%) et spécifiques de la maladie cœliaque (90 à 97%) (11), (12), (13) (14).

La recherche des anticorps anti transglutaminase tissulaire (tTG) IgA est maintenant reconnue comme le test de première intention en cas de suspicion de maladie cœliaque chez l'adulte et l'enfant. L'association élevée de la maladie cœliaque avec un déficit sélectif en IgA est une source potentielle de faux négatif. Par conséquent, la recherche d'IgG anti transglutaminase tissulaire (tTG) est préconisée en seconde intention chez les patients déficitaires en IgA.

3- PRINCIPE

IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA est un test d'immunofiltration qui utilise une transglutaminase tissulaire recombinante d'origine humaine fixée sur une membrane de nitrocellulose pour détecter la présence d'autoanticorps de type IgA dirigés contre ce marqueur spécifique de la maladie cœliaque. Le test est constitué d'une membrane insérée dans un moule plastique contenant une substance absorbante. La membrane est visible à travers une fenêtre de lecture située sur la face du moule plastique.

La transglutaminase tissulaire recombinante est fixée sur la membrane sous la forme d'une bande au niveau de la zone T1. La protéine A est fixée sur la membrane au niveau de la zone C.

Lorsque l'échantillon dilué dans le tampon de dilution passe à travers la membrane, les anticorps anti tTG se lient avec la transglutaminase tTG au niveau de la bande T1. Cette étape est suivie de l'addition d'un conjugué anti IgA marqué à la phosphatase alcaline puis d'un lavage à l'aide d'une solution de lavage. La révélation se fait ensuite grâce à l'addition d'un substrat chromogène. L'apparition de deux bandes mauves indique la présence d'anticorps IgA anti transglutaminase. En cas de résultat négatif, seule la bande C de contrôle est visible. La solution d'arrêt est ajoutée pour éviter tout bruit de fond pouvant apparaître dans le temps.

4- MATERIEL FOURNI

Chaque trousse contient les composants nécessaires à la réalisation de 12 tests.

SORB

12 cassettes : La transglutaminase tissulaire est immobilisée sur la membrane sous la forme d'une bande au niveau de la zone T1. De la protéine A est déposée sous forme de bande au niveau de la zone contrôle C.

Note : La bande T1 est de couleur jaune et la bande C de couleur rose

DIL

1 Flacon contenant 8 ml de Tampon de dilution, Réactif 1.

CONJ

1 flacon contenant 8 ml de conjugué anti IgA couplé à la phosphatase alcaline Réactif 2.

WASH

1 flacon contenant 8 ml de solution de lavage, Réactif 3.

SUBS 1 flacon contenant 8 ml de substrat chromogène, Réactif 4

STOP 1 flacon contenant 8 ml de solution d'arrêt, Réactif 5

- IFU 1 notice d'utilisation

5- MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

1. Tube de recueil du sang
2. Tube à hémolyse
3. Centrifugeuse
4. Vortex
5. Chronomètre
6. Pipettes de précision

6- LIMITES DU TEST

1. IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA est destiné au dépistage des autos anticorps anti Transglutaminase tissulaire (tTG) humaine recombinante dans le sérum. Ce test est réservé au diagnostic *in vitro*. La quantification du taux d'anticorps et le suivi de cinétique n'est pas réalisable avec IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA.
2. L'association élevée de la maladie cœliaque avec un déficit sélectif en IgA est une source potentielle de faux négatif. Par conséquent, la recherche d'IgG anti tTG est préconisée en seconde intention chez les patients déficients en IgA.
3. IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA indique uniquement la présence ou l'absence d'anticorps anti Transglutaminase tissulaire (tTG) dans le sérum et ne doit pas être utilisé comme seul critère de diagnostic de la maladie cœliaque.
4. Comme pour tout test de diagnostic *in vitro*, le résultat doit être interprété par le clinicien à la vue de toutes les autres informations cliniques et biologiques disponibles (notamment biopsie du grêle).
5. Les résultats obtenus chez des patients immunodéprimés doivent être interprétés avec précaution.
6. La présence de facteur rhumatoïde à forte concentration (> 100 UI/ml) peut entraîner des réactions faussement positives.

7- CONSERVATION ET STABILITE

- La trousse doit être conservée à température réfrigérée (2-8°C)
- La cassette réactive est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur le sachet.
- La cassette doit être conservée dans son sachet jusqu'à utilisation.
- Les flacons doivent être immédiatement remplacés à 2-8°C après chaque utilisation
- **NE PAS CONGELER.**

8- PRECAUTIONS

- Pour diagnostic *in vitro* uniquement. Ne pas utiliser après la date de péremption.
- Ne pas manger, boire ou fumer lors de la manipulation des échantillons et du test.
- Les échantillons de sérum doivent être considérés comme potentiellement infectieux. Lors de la réalisation du test, prendre les précautions nécessaires à la manipulation de produits infectieux. Traiter ensuite les différents éléments du test et les échantillons selon la procédure réservée aux déchets potentiellement infectieux.
- Se munir d'une blouse, de gants et de protection oculaire lors de la réalisation du test.
- L'humidité et la température peuvent affecter le résultat du test. Il est recommandé de réaliser le test à température ambiante inférieure à 25°C.

9- RECUEIL ET CONSERVATION DE L'ECHANTILLON

- IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA doit être utilisé sur sérum uniquement.
- Ne pas utiliser de sérums hémolysés ou contaminés. Les échantillons turbides doivent être centrifugés avant la réalisation du test.
- Le test doit être réalisé immédiatement après recueil et centrifugation de l'échantillon ; sinon, conserver l'échantillon 48 heures à 2-8°C au maximum. Pour une conservation prolongée, le sérum doit être congelé à -20°C. En effet, des réactions non spécifiques ont été notées lors de conservation supérieures à 48 heures à 2-8°C.
- Les échantillons congelés doivent être ramenés à température ambiante avant la réalisation du test et mélangés de façon homogène. Les échantillons ne doivent pas subir des congélations/décongélations répétées.
- En cas d'envoi des échantillons, se conformer à la réglementation relative à l'envoi de produits d'origine humaine.
- Pour les préparations lyophilisées, bien suivre les instructions relatives à la reconstitution de l'échantillon et attendre que la préparation soit revenue à température ambiante avant de réaliser le test.

10- PROCEDURE DE CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle de procédure interne est intégré au test (bande contrôle). Cela permet de contrôler que le volume de sérum est suffisant et que la procédure a été suivie correctement.

11- PROCEDURE

1. Ramener les différents composants du test pendant 30 minutes à température ambiante.
2. Retirer la cassette du sachet aluminium et l'utiliser le plus rapidement possible.
3. Déposer 25 µL de sérum au fond d'un tube à hémolyse et y ajouter 0,5 ml de tampon de dilution DIL. Homogénéiser en aspirant et refoulant le liquide avec la pipette.
4. Verser directement ou à l'aide d'une pipette la totalité de l'échantillon dilué dans la fenêtre de la cassette. Attendre l'absorption totale du liquide (**environ 3 min.**).
5. Mélanger efficacement le réactif Conjugué par agitations légères avant de réaliser le test. A l'aide d'une pipette de laboratoire, prélever 0,5 ml de conjugué CONJ et verser la totalité dans la fenêtre de la cassette. Attendre l'absorption totale du liquide (**environ 3 min**).
6. A l'aide d'une pipette de laboratoire, prélever 0,5 ml de solution de lavage WASH et verser la totalité dans la fenêtre de la cassette. Attendre l'absorption totale du liquide (**environ 3 min.**).
7. A l'aide d'une pipette de laboratoire, prélever 0,5 ml de solution de substrat SUBS et verser la totalité dans la fenêtre de la cassette. Attendre **5 minutes exactement**.
8. A l'aide d'une pipette de laboratoire, prélever 0,5 ml de solution d'arrêt STOP et verser la totalité dans la fenêtre de la cassette.
9. Lire le résultat **immédiatement après absorption totale du liquide. Ne pas lire au-delà de 5 minutes.**

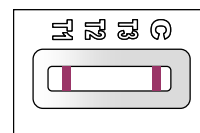
Notes :

1. Il est important de respecter exactement le temps de 5 minutes entre l'étape 7 (ajout de 0.5 ml de substrat SUBS) et l'étape 8 (ajout de 0.5 ml de solution d'arrêt STOP). En effet, une incubation prolongée peut entraîner l'apparition d'une bande Test de faible intensité sur des échantillons négatifs.
2. Prendre soin de ne pas mettre l'embout de pipette en contact avec la membrane. Utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque étape afin de ne pas contaminer les Réactifs 1, 2, 3, 4 et 5.

12- LECTURE DU RESULTAT

POSITIF :

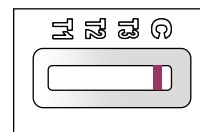
IgA anti transglutaminase tissulaire (tTG) positif : Présence d'une bande T1 mauve (même de très faible intensité) et d'une bande contrôle C mauve. Présence d'autoanticorps IgA anti transglutaminase tissulaire en faveur d'une maladie cœliaque.



NEGATIF :

Absence de bande mauve et présence d'une bande contrôle C mauve.

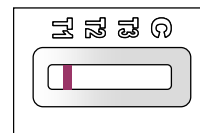
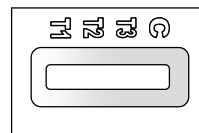
Les anticorps **transglutaminase tissulaire (tTG)** ne sont pas présents en faveur d'absence de maladie cœliaque.



NON SIGNIFICATIF :

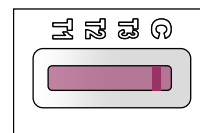
Absence de bande contrôle C mauve.

Un volume d'échantillon insuffisant ou une mauvaise réalisation du test sont les deux causes les plus fréquentes de résultat non significatif. Répéter le test avec une nouvelle cassette.



Apparition d'un bruit de fond mauve intense

Un bruit de fond mauve intense peut apparaître sur la membrane sur certain sérum. Dans ce cas, ne pas tenir compte du résultat.



13- VALEURS ATTENDUES

Sur un panel de 69 donneurs de sang de Strasbourg, le taux de positivité en IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA est de 2,9%.

14- PERFORMANCES

1. Etude sur un panel de sérums provenant de patients principalement ambulatoires et de donneurs de sang.

Les sérums de patients ont été testés en anti transglutaminase tissulaire IgA par méthode ELISA (INOVA)

		SERUMS anti tTG +	SERUMS anti tTG -
IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA	POSITIF	78	2
	NEGATIF	4	70
		Sensibilité = 95,1 %	Spécificité = 97,2 %

2. Etudes des réactions croisées avec des sérums potentiellement interférents

Sérums	NEGATIF	POSITIF	Remarques
Facteur rhumatoïde	2	2	Positifs > 100 UI/ml
Sérums hémolysés	3	1	
Plasmas	4	0	

3. Etude Inter et intra essais

IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA a été évalué en tripliqué sur deux lots différents sur un panel d'échantillons négatifs, faiblement positifs et fortement positifs. Les résultats obtenus ont montré une reproductibilité inter lot et intra essais de 100%.

15- BIBLIOGRAPHIE

1. Gee S. On the coeliac affection. St Barth Hosp Rep 1888;24:17-20.
2. Trier JS. Celiac sprue. N Engl J Med 1991;325:1709-19.
3. Matuchansky C, Vahedi K, Morin MC, Bouhnik Y. Régime sans gluten et maladie coeliaque de l'adulte. Gastroenterol Clin Biol 1999;23:B115-B123.
4. Maki M, Collin P. Coeliac disease. Lancet 1997;349:1755-9.
5. Hovdenak N, Hovlid E, Aksnes L, Fluge G, Erichsen MM, Eide J. High prevalence of asymptomatic coeliac disease in Norway : a study of blood donors. Eur J Gastroenterol Hepatol 1999;11:185-7.
6. Ivarsson A, Persson LA, Juto P, Peltonen M, Suhr O, Hernell O. High prevalence of undiagnosed coeliac disease in adults : a Swedish population-based study. J Intern Med 1999;245:63-8.
7. Ferguson A. Celiac disease, an eminently treatable condition, may be underdiagnosed in the United States. Am J Gastroenterol 1997;92:1252-4.
8. Holmes GK, Prior P, Lane MR, Pope D, Allan RN. Malignancy in coeliac disease--effect of a gluten free diet. Gut 1989;30:333-8.
9. Holmes GKT, Thompson H. Malignancy as a complication of coeliac disease. In : Marsh MN, ed. Coeliac disease. Oxford : Blackwell, 1992:105-35.
10. Stravropoulos SN, Green PHR, Panagi SG, Blanco E, Forde KA, Goldstein SL, et al. Small intestinal malignancy and celiac disease (abstract). Gastroenterology 1998;114:A418.
11. Fesus, L., And M. Piacentini. Transglutaminase 2: an enigmatic enzyme with diverse functions. Trends Biochem. Sci., 2002, 27:534-539.
12. Dieterich, W. Et al. Serum antibodies in Celiac Disease. Clin. Lab., 2000, 46:361-364.
13. Dieterich, W. Et al. Autoantibodies to tissue Transglutaminase as predictors of celiac disease. Gastroenterol., 1998, 115:1317-1321.
14. Dieterich, W. Et al., Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. Nature Med., 1997, 3:797-801.



1. Déposer 25 μ L de sérum au fond d'un tube et y ajouter 0,5 ml de tampon de dilution DIL. Homogénéiser en aspirant et refoulant le liquide avec la pipette



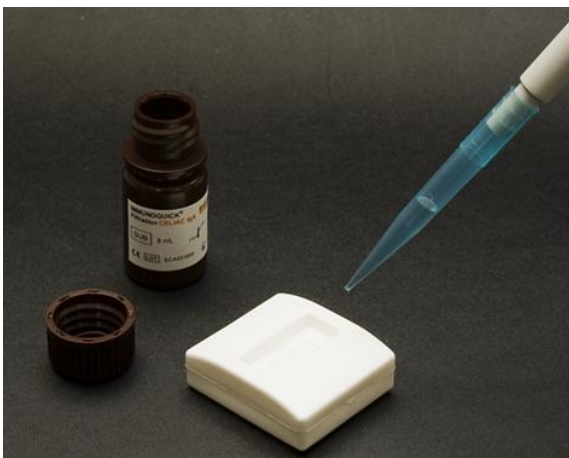
2. Verser directement ou à l'aide d'une pipette la totalité de l'échantillon dilué dans la fenêtre de la cassette. Attendre l'absorption totale du liquide (environ 3 min).



3. Mélanger le réactif Conjugué. Prélever 0,5 ml de conjugué CONJ et verser la totalité dans la fenêtre de la cassette. Attendre l'absorption totale du liquide (environ 3 min)



4. Prélever 0,5 ml de solution de lavage WASH et verser la totalité dans la fenêtre de la cassette. Attendre l'absorption totale du liquide (environ 3 min)



5. Prélever 0,5 ml de solution de substrat SUBS et verser la totalité dans la fenêtre de la cassette. **Attendre 5 minutes.**



6. Prélever 0,5 ml de solution d'arrêt STOP et verser la totalité dans la fenêtre de la cassette. Lire le résultat immédiatement après l'absorption. **Ne pas lire au-delà de 5 minutes.**

IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA

Rapid test for detection of IgA directed against recombinant human tissue transglutaminase (tTG) in serum

Ref. N°: 0518_K12

For *in vitro* diagnostic use only

1- INTENDED USE

IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA is an immunofiltration test for the qualitative detection of IgA antibodies directed against recombinant human tissue transglutaminase (tTG) in human serum.

2- INTRODUCTION

Celiac disease (CD) was first describe in 1888 by Samuel Gee (1). It is an inflammatory disease of the bowels with malabsorption syndrom caused by gluten in food. Small bowel mucosa shows total or subtotal villous atrophy, damage of enterocyte cells, intra epithelial hyperlymphocytosis, hypertrophy of the crypts. Patients may recover from those histological abnormalities after institution of a gluten free diet (GFD) based on avoidance of wheat, bareley, rye and oats from food and substitution with other cereals such as rice and corn (2). This recovery after diet is part of the CD definition. The classical triad (diarrhea, weight loss and steatorrhea) is present in only 25% of CD patients as they may concern late symptoms of the disease history (3), (4). Latent or pauci symptomatic forms of CD are supposed to be more frequent (5), (6). Malabsorption predisposes for osteo-articular, neuromuscular, genital and cutaneous manifestations in half of the patients (7) with increased risk of neoplasia in the long term especially non hodgkinian lymphoma of the small bowel (8), (9) (10).

Diagnosis of coeliac disease is confirmed by abnormal findings on the small bowel biopsy and later verified by the clinical response to a gluten-free diet. Approximately 10% of patients, particularly adults, require corticosteroids in addition to gluten restriction to normalize the mucosa.

The enzyme tissue Transglutaminase (tTG) has been reported to be the main, if not sole, target for endomysial antibodies. These antibodies fall once a gluten-free diet has begun, thus facilitating monitoring of dietary compliance. Anti-tTG IgA are a highly sensitive marker for coeliac disease with 95-100 %, and have a specificity of 90 to 97 % (11), (12), (13) (14).

Detection of anti tTG IgA antibodies is now recognized as main marker in case of suspected celiac disease in adults and children. The increased association of celiac disease with selective IgA deficiency is a source of false negative results. Thus, testing for anti tTG IgG is recommended in patients with known IgA deficiency.

3- PRINCIPLE

IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA is an immunofiltration assay which uses recombinant human tissue transglutaminase (tTG) as a specific marker of celiac disease. The test comprises of a membrane solid phase, which is held in a plastic envelope containing wicking material. The membrane is visible to the user through a test window on the front of the device.

Recombinant tissue transglutaminase is immobilized on the membrane as test band at the level of T1 zone. Protein A has been bound to the membrane as a control band at the level of the C zone.

When a pre-diluted serum sample is allowed to pass through the membrane any anti-tTG antibodies bind to the transglutaminase tTG at the level of the T1 zone. This step is followed by addition of anti human IgA antibodies conjugated to Alkaline Phosphatase and washing with washing buffer. Upon addition of the chromogenic substrate reagent, appearance of two purple bands is indicative of presence of anti transglutaminase IgA antibodies. In case of negative results, only Control band appears. Stop solution is added to avoid any appearance of background.

4- PROVIDED MATERIAL

Each IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA kit contains enough components to run 12 tests :

SORB IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA test devices: tissue transglutaminase has been immobilized on the membrane at the level of test band T1. Protein A has been bound to the membrane at the level of the C control zone.

Note : T1 band is yellow and C band is pink. Colors disappear after performing the test

DIL One vial containing 8 ml sample diluent buffer, Reagent 1.

CONJ One vial containing 8 ml of anti IgA conjugate coupled to Alkaline Phosphatase, Reagent 2.

WASH One vial containing 8 ml of washing buffer, Reagent 3.

SUBS One vial containing 8 ml of chromogenic substrate, Reagent 4.

STOP One vial containing 8 ml stop solution, Reagent 5.

- 1 instruction for use

5- MATERIAL NEEDED BUT NOT PROVIDED

1. Blood collection tube
2. Plastic tube
3. Centrifuge
4. Vortex
5. Timer
6. Laboratory pipette

6- TEST LIMITS

1. IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA is intended for screening of anti human recombinant tissue transglutaminase auto antibodies in serum. The test is for *in vitro* diagnostic use only. IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA doesn't allow quantitative detection or the monitoring of antibodies level in known patients.
2. The increased association of celiac disease with selective IgA deficiency is a source of false negative results. Thus, testing for anti tTG IgG is recommended in patients with known IgA deficiency.
3. IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA indicates only the presence of anti tissue transglutaminase (tTG) antibodies in serum and cannot be used as single criteria for the diagnostic of celiac disease.
4. As for all *in vitro* diagnostic tests, the result should be interpreted by the physician based on all other available clinical and biological data. (Mainly small bowel biopsy).
5. Results from immunosuppressed patients should be considered with caution.
6. Presence of rheumatoid factor in high concentration (> 100 UI/ml) can lead to false positive results.

7- STORAGE AND STABILITY

- The kit has to be stored refrigerated (2-8°C)
- The device is stable until the expiry date indicated on the pouch
- The device should be kept in the pouch
- Vials have to be stored at 2-8°C immediately after each use
- **NOT TO FREEZE**

8- PRECAUTIONS

- For diagnostic *in vitro* use only. Do not use after the expiry date.
- Do not eat, drink or smoke during the handling of the samples and the test.
- The samples of blood and serum must be regarded as potentially infectious. When performing the test, necessary precautions for handling of infectious products should be taken. The various elements of the test and the samples should be handled according to the procedure reserved for potentially infectious waste.
- Wear labcoat, gloves and ocular protection when performing the test.
- Humidity and temperature can affect the test result. It is recommended to perform the test at room temperature below 25 ° C.

9- COLLECTION AND STORAGE OF SAMPLES

- IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA should be used on serum only.
- Do not use haemolysed or contaminated samples. Turbid samples should be centrifuged before use.
- It is recommended to perform the test immediately after collection and centrifugation of the sample. Otherwise, the serum can be stored at 2-8°C for 48 hours maximum. For longer storage, serum has to be frozen at -20°C. Indeed, non specific reactions were identified when serum samples are stored more than 48 hours at 2-8°C.
- Frozen samples have to be brought to room temperature before performing the test and thoroughly mixed. Samples should not undergo multiple freeze/thaw cycles.
- In case of sample shipment, proceed according to regulation for shipment of products of human origin.
- For lyophilized preparation, it is recommended to carefully abide to corresponding reconstitution procedure and wait until the reconstituted serum is back to room temperature before running the test.

10- COMPLEMENTARY QUALITY CONTROL PROCEDURE

An internal control procedure is incorporated in the test (control band). This allows confirmation that serum volume is sufficient and that the procedure has been correctly performed.

11- PROCEDURE

1. Bring all needed components to room temperature before running the test.
2. Take the device out of the aluminum pouch and use it as quickly as possible.
3. Drop 25 µl of serum in the bottom of a plastic tube and add 0.5 ml of dilution buffer DIL. Thoroughly mix by pipetting back and forwards.
4. Use a laboratory pipette or directly drop the diluted sample from the tube into the device window. Allow the diluted sample to drain into the device window (Approximately 3 min)
5. Thoroughly mix the Conjugate reagent by gentle agitation before testing. Pipette 0.5 ml of conjugate CONJ and drop it fully into the device window. Allow the developing reagent to drain into the device window (Approximately 3 min.).
6. Pipette 0.5 ml of washing buffer WASH and drop it fully into the device window. Allow the washing buffer to drain into the device window (Approximately 3 min.).
7. Pipette 0.5 ml of Chromgenic substrate SUBS and drop it fully into the device window. Allow the substrate to drain into the device window and **wait for 5 minutes exactly.**
8. Pipette 0.5 ml of stop solution STOP and drop it fully into the device window.
9. Read the result after stop solution has fully drained into the device. **Not to read after 5 minutes.**

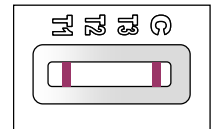
Notes:

1. **It is essential to wait exactly 5 minutes between step 7 (addition of 0.5 ml of substrate SUBS) and step 8 (addition of 0.5 ml of stop solution STOP). Indeed, a prolonged incubation time can lead to faint Test band on negative samples.**
2. **Make sure not to touch the membrane with the pipette tip. Use new tips for every stage not to contaminate reagents 1, 2, 3, 4 and 5.**

12- INTERPRETATION OF THE RESULT

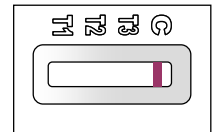
POSITIVE:

Anti tissue transglutaminase (tTG) IgA positive : Presence of purple T1 band (even of weak intensity) and purple C control band. Presence of IgA anti tissue transglutaminase auto antibodies in favour of celiac disease.



NEGATIVE:

Absence of purple T1 band and presence of purple C control band. Anti tissue transglutaminase IgA auto antibodies are not present which is in favour of absence of celiac disease.

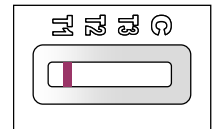
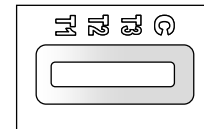


INVALID:

Absence of purple C control band.

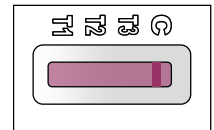
Insufficient sample volume or a wrong procedure are the two most frequent causes of invalid results.

The test has to be run again with a new device.



Presence of dark purple background

A strong purple background may appear on the membrane. In this case the test is invalid.



13- EXPECTED VALUES

On a panel of 69 blood donors from Strasbourg, the rate of positivity with IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA is 2,9 %.

14- PERFORMANCES

1. Study of a panel from ambulatory patients and blood donors

Sera were tested with **anti tissue transglutaminase (tTG) IgA by ELISA (INOVA)**

IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA	POSITIF	SERUMS anti tTG + 78	SERUMS anti tTG - 2
	NEGATIF	4	70
		Sensibility = 95.1 %	Spécificity = 97.2 %

2. Cross reaction study with potentially interfering sera

Sera	NEGATIVE	POSITIVE	Notes
Rheumatoid factor	2	2	Positive > 100 UI/ml
Hemolyzed sera	3	1	
Plasma	4	0	

3. Inter and intra assay study

IMMUNOQUICK® Filtration CELIAC IgA was evaluated in triplicate on two different lots with a panel of negative, low positive and high positive sera. Results show inter lot and intra lot reproducibility of 100%.

15- BIBLIOGRAPHY

1. Gee S. On the coeliac affection. St Barth Hosp Rep 1888;24:17-20.
2. Trier JS. Celiac sprue. N Engl J Med 1991;325:1709-19.
3. Matuchansky C, Vahedi K, Morin MC, Bouhnik Y. Régime sans gluten et maladie coeliaque de l'adulte. Gastroenterol Clin Biol 1999;23:B115-B123.
4. Maki M, Collin P. Coeliac disease. Lancet 1997;349:1755-9.
5. Hovdenak N, Hovlid E, Aksnes L, Fluge G, Erichsen MM, Eide J. High prevalence of asymptomatic coeliac disease in Norway : a study of blood donors. Eur J Gastroenterol Hepatol 1999;11:185-7.
6. Ivarsson A, Persson LA, Juto P, Peltonen M, Suhr O, Hernell O. High prevalence of undiagnosed coeliac disease in adults : a Swedish population-based study. J Intern Med 1999;245:63-8.
7. Ferguson A. Celiac disease, an eminently treatable condition, may be underdiagnosed in the United States. Am J Gastroenterol 1997;92:1252-4.
8. Holmes GK, Prior P, Lane MR, Pope D, Allan RN. Malignancy in coeliac disease--effect of a gluten free diet. Gut 1989;30:333-8.
9. Holmes GKT, Thompson H. Malignancy as a complication of coeliac disease. In : Marsh MN, ed. Coeliac disease. Oxford : Blackwell, 1992:105-35.
10. Stravropoulos SN, Green PHR, Panagi SG, Blanco E, Forde KA, Goldstein SL, et al. Small intestinal malignancy and celiac disease (abstract). Gastroenterology 1998;114:A418.
11. Fesus, L., And M. Piacentini. Transglutaminase 2: an enigmatic enzyme with diverse functions. Trends Biochem. Sci., 2002, 27:534-539.
12. Dieterich, W. Et al. Serum antibodies in Celiac Disease. Clin. Lab., 2000, 46:361-364.
13. Dieterich, W. Et al. Autoantibodies to tissue Transglutaminase as predictors of celiac disease. Gastroenterol., 1998, 115:1317-1321.
14. Dieterich, W. Et al., Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. Nature Med., 1997, 3:797-801.



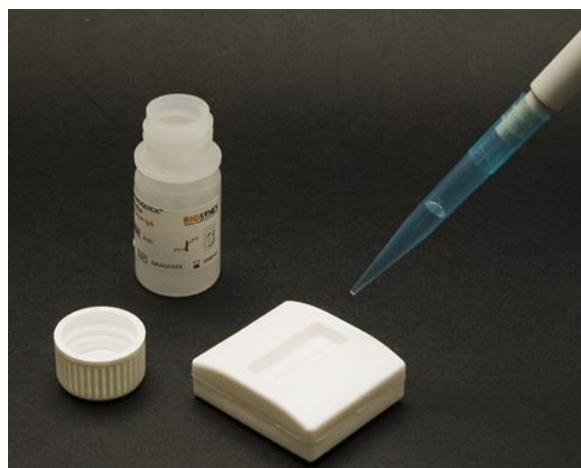
1. Drop 25 µl of serum in the bottom of a plastic tube and add 0.5 ml of dilution buffer DIL. Thoroughly mix by pipetting back and forwards



2. Use a laboratory pipette or directly pour the diluted sample from the tube into the device window. Allow the diluted sample to drain through the device window (Approximately 3 min).



3. Thoroughly mix the Conjugate reagent by shaking gently. Pipette 0.5 ml of conjugate CONJ into the device window. Allow the developing reagent to drain through the device window (Approximately 3 min).



4. Pipette 0.5 ml of washing buffer WASH into the device window. Allow the washing buffer to drain through the device window (Approximately 3 min).



5. Pipette 0.5 ml of Chromgenic substrate SUBS into the device window. **Wait for 5 minutes**



6. Pipette 0.5 ml of stop solution STOP into the device window. Read the result after stop solution has fully drained into the device. **Not to read after 5 minutes.**