

**281****A NEW INDIRECT CHEMILUMINESCENT IMMUNOASSAY TO MEASURE ANTI-TRANSGLUTAMINASE ANTIBODIES: MORE THAN A PROMISE**

Fasolo M., Guariso G.\*, Basso D., Pittoni M., Schiavon S., Fogar P.^\, Greco E., Navaglia F., Zambon C.-F.^\, Plebani M.

Departments of Laboratory Medicine, \*Pediatrics and ^Medical and Surgical Sciences, University of Padova, Italy.

Anti transglutaminase antibodies (anti-tTG) determination using the human antigen is a very accurate test to diagnose celiac disease (CD). In this study we compared two second generation ELISAs (Celikey tTG and QuantaLite) and anti-endomysial antibodies (EMAs) with a new indirect chemiluminescence immunoassay (LIAISON tTG) in diagnosing and monitoring CD in children. 56 control children, 64 children with histologically proven CD and in 30 CD children on gluten free diet (GFD) were studied. Anti-tTG mean levels measured with any of the three studied methods were significantly higher in CD with respect to controls or GFD children. The sensitivities, for a 100% fixed specificity, were: 89.8% for EMAs, 98.4% for LIAISON tTG (cut-off=7.0 AU/mL), 92.2% for Celikey tTG (4.0 Units/mL) and 94.3% for QuantaLite (55.0 Units). LIAISON tTG or Celikey tTG levels were significantly higher in EMAs 2+ or 3+ than in EMAs negative patients ( $F=15.5$ ,  $p<0.001$  and  $F=21.3$ ,  $p<0.001$ ); QuantaLite tTG levels were higher in EMAs 1+, 2+ and 3+ than in EMA negative and in EMAs 3+ patients than in EMAs 1+ patients ( $F=31.2$ ,  $p<0.001$ ). Discriminant analysis to distinguish between CD and controls considering LIAISON tTG alone allowed the correct classification of 79.2% of cases (Chi-square=54.2,  $p<0.001$ ), whereas combined anti-tTG and EMAs allowed the correct classification of 82.8% cases (Chi-square= 32.2,  $p<0.001$ ). 26 CD children were followed up after GFD. The drop in levels of LIAISON tTG was statistically significant (Student's t test for paired data:  $t=4.99$ ,  $p<0.001$ ). A similar pattern was observed for Celikey tTG ( $t=4.58$ ,  $p<0.001$ ) or QuantaLite ( $t=6.71$ ,  $p<0.001$ ). In conclusion the determination of anti-tTG with second generation ELISAs is more effective than EMAs for CD diagnosis. The LIAISON tTG had the highest sensitivity and specificity in the diagnosis of CD. The anti-tTG test is suitable for verifying patient compliance to dietary treatment.

Sollid LM. Coeliac disease: dissecting a complex inflammatory disorder. *Nature Rev Immunol* 2002;2:647-55.

**282****VALIDAZIONE DI UN METODO IMMUNOMETRICO.**

Peruzzini A., Elengikal P., Gorza R., Pegoretti G., Sicà A.

Laboratorio Patologia Clinica Ospedale S.Chiera TN

La validazione di un metodo di analisi è la dimostrazione oggettiva della sua adeguatezza e consiste in una serie di prove di laboratorio per stabilire se le caratteristiche di un metodo soddisfino le prestazioni per le quali il metodo stesso è applicato. Viene indagato un metodo immunometrico per la determinazione degli oppiacei, tra i più diffusi nei laboratori clinici applicato su analizzatore AxSYM, che utilizza un dosaggio immunologico a fluorescenza polarizzata (FPIA). Sono state prese in esame le maggiori caratteristiche quali: specificità, sensibilità, precisione, recupero, limite di rilevabilità, linearità e incertezza. La specificità del metodo esaminato è complessivamente buona, anche in presenza di modifiche della matrice urinaria. La sensibilità, ricavata dal profilo di imprecisione, è sovente indicata con un CV del 50 %, valore di concentrazione affetto da una DS uguale alla metà del suo valore che porta il limite inferiore dell'intervallo di confidenza (d'ampiezza  $\pm 2$  DS) ad estendersi fino a zero. Alternativamente la sensibilità è stata anche stimata, misurando la DS della risposta in corrispondenza del valore 0 di calibrazione, risultando pari a 4.0 ng/ml. La linearità del metodo, non supera 1000 ng/mL in coerenza con il valore dichiarato. L'intervallo di lavoro compreso fra 50 e 360 ng/ml risulta il migliore. Il limite di rilevabilità risulta al di sotto del dichiarato cioè 20 ng/mL, con l'effettiva possibilità di misurare concentrazioni più basse, verificando una sostanziale qualità di attività dell'anticorpo nella zona che contiene anche il valore di cut-off (300 ng/ml). La valutazione del recupero dà un'indicazione sull'esattezza operando con il metodo delle aggiunte note. L'accuratezza è stata calcolata esclusivamente per via statistica, utilizzando i dati del controllo di qualità già raccolti. L'incertezza o errore analitico totale come somma di tutti gli errori legati ai vari passaggi analitici, viene calcolata secondo la teoria di propagazione dell'errore; ma il processo analitico strumentale è a "scatola chiusa" e in definitiva non è determinabile. Si è giunti ad una stima indicativa relativa all'incertezza come somma di tutti gli errori sistematici e casuali, che a sua volta definisce un intervallo da associare al dato ed entro il quale si deve trovare il valore vero con un certo grado di probabilità, in questo caso, si è assunto una probabilità pari a 1,65 DS. L'incertezza tende a dilatarsi all'aumentare della concentrazione in armonia con il valore dell'accuratezza; a dimostrazione di come la parte finale dell'intervallo di lavoro sia particolarmente soggetto ad errori.

Bibliografia: S. Casagrande, D. Castaldi, G. Giurin: elementi di validazione dei metodi di analisi chimica