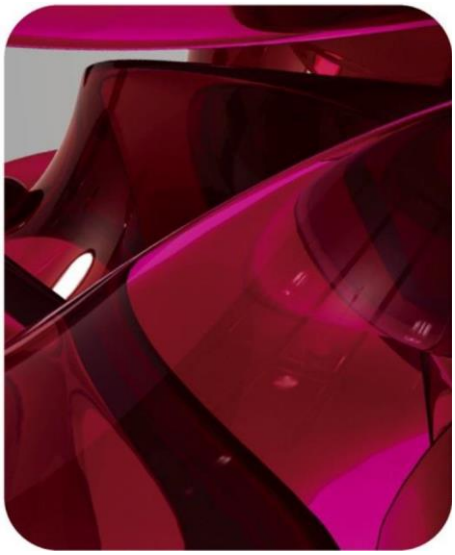
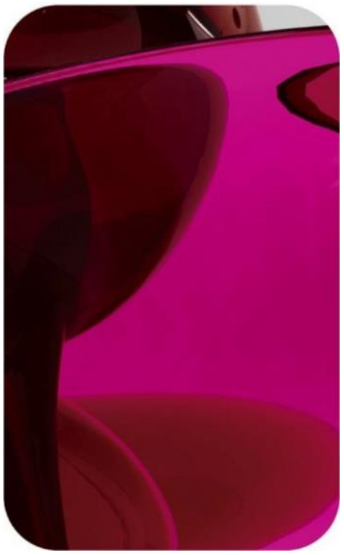
AESKU.DIAGNOSTICS

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS







AESKUBLOTS®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MANUALE DI ISTRUZIONI

AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA

Ref 401005

CE

Manuale di istruzioni

Indice

1 Destinazione d'uso 1
2 Applicazione clinica e principio del test 1
3 Contenuto del kit 5
4 Conservazione e durata 5
5 Precauzioni per l'uso e informazioni generali 6
6 Raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni 7
7 Procedimiento del ensayo 8
8 Valutazione quantitativa 10
9 Dati tecnici 12
10 Dati di prestazione 12
11 Smaltimento 19
12 Nota per l'utente (Unione europea) 19
13 Bibliografia 20
14 Simboli normativi 21



Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim
Germany
Phone: +49 6734 9622-0
Fax: +49 6734 9622-2222
Website: www.aesku.com
Mail: info@aesku.com

1 Destinazione d'uso

***AESKUBLOTS*® Gluten Related Disorders IgA** è un test immunoenzimatico basato su membrana per la determinazione quantitativa degli anticorpi della sottoclasse IgA diretti contro gliadina, DGP, tTG, tTG neo, TG3, mTG neo, mTG e Frazer's Fraction nel siero o plasma umano. Gli antigeni vengono applicati in file parallele su una membrana di nitrocellulosa in posizioni definite.

Il test è utilizzato come ausilio nella diagnosi dei disturbi correlati al glutine, come per esempio la celiachia o la sensibilità non celiaca al glutine, ma non è in grado di individuare i campioni di pazienti che seguono una dieta priva di glutine.

Il kit è destinato esclusivamente all'uso professionale in laboratori clinici.

2 Applicazione clinica e principio del test

I disturbi correlati al glutine (inglese: Gluten Related Disorders (GRD)) sono disturbi sistemici innescati dal glutine e includono la celiachia (inglese: Celiac Disease (CD)), la sensibilità non celiaca al glutine (inglese: non-celiac gluten sensitivity (NCGS)), la dermatite erpetiforme (DH) e l'allergia al grano.

È possibile classificare i disturbi correlati al glutine in diversi gruppi:

- Disturbi autoimmuni: celiachia (CD), dermatite erpetiforme (DH).
- Un disturbo non autoimmune, non allergico, con cause sconosciute, probabilmente modulato a livello immunitario: sensibilità non celiaca al glutine (NCGS).
- Disturbi allergici: allergia alimentare (IgE-mediata e non IgE-mediata), anafilassi grano-dipendente indotta dall'esercizio fisico (WDEIA), asma del panettiere, dermatite da contatto.

Celiachia

La celiachia è una patologia a carattere spesso infiammatorio dell'intestino tenue, con possibilità di manifestazioni sistemiche, innescata dal consumo di alimenti contenenti glutine. Il glutine è una proteina definita collante, una miscela proteica presente in vari tipi di cereali (ad esempio grano, orzo, segale). La proteina più importante per lo sviluppo della celiachia è la gliadina.

In pratica, la celiachia colpisce circa lo 0,5-1,0% della popolazione, con una tendenza all'aumento; la malattia può manifestarsi a qualsiasi età. Attualmente, quindi, adulti e bambini sono colpiti in proporzioni pressoché uguali. Oltre alla tipica infiammazione della mucosa dell'intestino tenue, le persone colpite manifestano anche sintomi come affaticamento, dolore addominale e diarrea, nonché perdita di peso, anemia, problemi di fertilità, bassa statura e osteoporosi come conseguenza del malassorbimento dei nutrienti.

I pazienti affetti presentano una predisposizione genetica HLA-DQ2 o -DQ8. Un altro fattore scatenante è la gliadina ingerita con il cibo, solo parzialmente digerita nell'intestino. Nei pazienti celiaci, i peptidi di gliadina rimanenti possono attraversare l'epitelio dell'intestino tenue e raggiungere il tessuto connettivo sottostante. Qui la transglutaminasi tissutale opera la deamidazione e la transamidazione (formazione di complessi) dei frammenti proteici. Durante la deamidazione, l'amminoacido glutammina si trasforma in acido glutammico. In presenza di una predisposizione genetica, le cellule presentanti l'antigene presentano in misura crescente questi peptidi modificati al

sistema immunitario. Di conseguenza, vengono prodotti anticorpi contro specifici epitopi di gliadina deamidata e, come risultato della cosiddetta diffusione dell'epitopo, anche contro l'enzima tTG dello stesso organismo. Questo comporta a sua volta un'infiammazione e un danno alla mucosa dell'intestino tenue, riconoscibile anche a livello istologico da un'atrofia villosa e da un'iperplasia delle cripte intestinali.

La biopsia dell'intestino tenue è ancora considerata lo standard di riferimento. È possibile classificare la celiachia in 3 tipi, in base alla gravità dell'istopatologia intestinale:

Marsh tipo I: proliferazione dei linfociti intraepiteliali (IEL) con normale architettura della mucosa.

Marsh tipo II: ulteriore iperplasia delle cripte con villi ancora normali

Marsh tipo III: proliferazione degli IEL, iperplasia delle cripte, degenerazione delle cellule epiteliali e rigonfiamento dei villi.

In caso di diagnosi di celiachia, i soggetti che seguono una dieta priva di glutine duratura mostrano un miglioramento dei sintomi. Nell'arco di 3-12 mesi, la sierologia celiaca si normalizza (gli anticorpi non sono più rilevabili) e anche l'infiammazione intestinale diminuisce, seppur lentamente.

Dermatite erpetiforme

La dermatite erpetiforme è una manifestazione cutanea della celiachia. Nella fase acuta, i soggetti colpiti presentano sempre un prurito molto intenso e irritante. Le prime manifestazioni cutanee sono piccole papule rossastre, raramente più grandi, che si trasformano in vescicole.

La diagnosi consiste nella rilevazione ottica in immunofluorescenza di depositi granulari di IgA nella cute non affetta. In questo caso, è inoltre necessario eseguire una biopsia dell'intestino tenue, perché i pazienti presentano le stesse alterazioni della mucosa dei soggetti affetti da celiachia, pur essendo paucisintomatici. In questa particolare tipologia di celiachia si formano, tra l'altro, autoanticorpi contro la transglutaminasi del tessuto epidermico dell'organismo stesso (TG3); questi autoanticorpi hanno assunto la funzione di marcatori sierologici.

Sensibilità non celiaca al glutine (NCGS)

Non esiste ancora una definizione universalmente accettata di NCGS. Sono considerati caratteristici della NCGS sintomi gastrointestinali aspecifici, ma anche extraintestinali, che si manifestano in relazione all'assunzione di alimenti contenenti glutine. Un prerequisito per la diagnosi di NCGS è un significativo miglioramento dei sintomi in seguito a una dieta priva di glutine, unitamente a una chiara esclusione della celiachia.

La fisiopatologia non è stata ancora adeguatamente delineata, ma alcuni studi suggeriscono che non solo il glutine, ma piuttosto gli inibitori dell'amilasi/tripsina (ATI), presenti in alte concentrazioni soprattutto nelle varietà di grano moderne, possano svolgere un ruolo chiave nella patogenesi.

La manifestazione clinica della NCGS è caratterizzata da sintomi gastrointestinali aspecifici e quindi è simile non solo alla celiachia, ma anche alla sindrome dell'intestino irritabile in particolare. È possibile osservare i seguenti sintomi: dolore addominale, diarrea, gonfiore, nausea, vomito, mal di testa, disturbi muscolari o stanchezza cronica.

Se l'anamnesi rivela una relazione temporale tra l'assunzione di glutine e i sintomi, come primo passo per stabilire una diagnosi è necessario escludere altre patologie associate al glutine, come la celiachia e l'allergia al grano. Se non è possibile attribuire la responsabilità dei sintomi né alla celiachia né all'allergia al grano, si può procedere con un regime alimentare che preveda l'eliminazione del glutine o dei prodotti a base di grano. Se i sintomi regrediscono in modo evidente e persistente, questo indica la presenza di NCGS.

Anticorpi e loro bersaglio:

- **Gliadin:** Gli anticorpi contro la gliadina sono significativamente elevati nei soggetti non celiaci con ulcerazione orale e sono comunemente riscontrati nella CD, subclinici in piccola misura nella CD, ma anche in un sottoinsieme di soggetti che non presentano la malattia.

- **DGP:** peptidi deamidati specifici della gliadina. Studi recenti hanno dimostrato che gli anticorpi diretti contro la gliadina nei pazienti celiaci si legano a un numero molto limitato di epitopi specifici sulla molecola di gliadina. Inoltre, la deamidazione selettiva della gliadina da parte della transglutaminasi tissutale aumenta il legame degli anticorpi anti-gliadina. Pertanto, i sistemi di analisi che utilizzano peptidi deamidati e definiti hanno una maggiore accuratezza diagnostica rispetto ai precedenti test anti-gliadina.

- **tTG:** la tTG consente una diagnosi della celiachia più semplice e affidabile. È un enzima che viene rilasciato in caso di danno cellulare ed è coinvolto nella riparazione dei tessuti. Gli anticorpi anti-tTG mostrano una maggiore sensibilità e specificità per la celiachia rispetto agli anticorpi anti-gliadina e sono fortemente correlati all'attività della patologia.

- **tTG neo:** la reticolazione della tTG (transamidazione) con peptidi specifici della gliadina induce la formazione di neo-epitopi della tTG. Poiché questi neo-epitopi sono strutturalmente più simili agli epitopi fisiologici rispetto agli antigeni utilizzati in precedenza, l'antigene neo-epitopo tTG può incrementare in modo significativo la sensibilità e la specificità del test. Gli studi hanno anche dimostrato che è possibile utilizzare il neo-epitopo tTG come marcatore per la dermatite erpetiforme.

- **TG3:** la transglutaminasi 3, o transglutaminasi epidermica, è espressa nell'epidermide. Le mutazioni nel gene TGM3 causano, tra l'altro, la sindrome dei capelli impettinabili o la dermatite erpetiforme di Duhring. Quest'ultima sindrome è una patologia della pelle appartenente al gruppo delle dermatosi autoimmuni vescicolose. Oltre alla vistosa presenza di vescicole e noduli pruriginosi, una delle cause di questa patologia è la celiachia. Il TGM3 si è dimostrato un marcatore altamente sensibile per la diagnosi della dermatite erpetiforme e può coadiuvarla ulteriormente.

- **mTG neo:** la transglutaminasi microbica (mTG) è impiegata come comune additivo nell'industria alimentare. Analogamente alla tTG, la mTG è in grado di creare legami incrociati con i peptidi specifici della gliadina e quindi di formare i cosiddetti neo-epitopi mTG. Gli anticorpi anti-neo-epitopo mTG possono essere osservati anche nei pazienti celiaci e sono correlati con l'indice di Marsh. Inoltre, è possibile riscontrare neo-epitopi mTG in altre patologie associate al glutine, come la NCGS.

- **mTG:** la transglutaminasi microbica (mTG) è impiegata come comune additivo nell'industria alimentare. È la causa principale della formazione dei cosiddetti neo-epitopi mTG, sospettati di essere un altro fattore scatenante della celiachia. Tuttavia, gli anticorpi contro l'enzima stesso sono molto rari.

- **Frazer's Fraction:** si tratta di una gliadina digerita con pepsina e tripsina. Già nel 1959, Frazer et al. dimostrarono che l'assunzione orale della Frazer's Fraction era dannosa per i pazienti celiaci. L'ipotesi è che una miscela di peptidi di gliadina presenti in natura aumenti significativamente la sensibilità e la specificità degli anticorpi anti-gliadina rilevati nel test. Tuttavia, questo non è ancora stato dimostrato.

- **IgA totali:** per rilevare un deficit di IgA. Oltre il 2 % dei pazienti celiaci presenta un deficit di IgA e risulta negativo al test degli autoanticorpi IgA (intensità del segnale delle IgA totali < 18 U/ml con ***AESKUBLOTS*® Gluten Related Disorders IgA**). Il test delle IgA è valutato quantitativamente o è inferiore al calibratore di cut-off quando valutato qualitativamente, anche con malattia in atto. In caso di deficit di IgA accertato, si raccomanda un ulteriore test per gli anticorpi IgG rilevanti per i GRD.

Principio del test

Gli antigeni vengono applicati in file parallele su una membrana di nitrocellulosa. La membrana è bloccata per evitare reazioni aspecifiche. Le strip di membrana con antigeni specifici in posizioni precise vengono incubate in campioni di siero diluiti in un rapporto 1:101. Se presenti nel campione, gli anticorpi del paziente si legano all'antigene. La frazione non legata viene eliminata tramite lavaggio nel passaggio successivo. In seguito, le immunoglobuline anti-umane coniugate alla perossidasi di rafano (coniugato) vengono incubate e reagiscono con il complesso antigene-anticorpo dei campioni. Il coniugato non legato viene eliminato tramite lavaggio nel passaggio successivo. Dopo l'aggiunta del substrato TMB, una reazione enzimatica provoca la conversione in un precipitato di colore blu. La reazione viene arrestata con acqua distillata.

3 Contenuto del kit

DA RICOSTITUIRE				
Componente	**Quantità**	**Colore del tappo**	**Colore della soluzione**	**Descrizione/Contenuto**
Reagente bloccante	2 x 10 ml di concentrato ciascuno	Bianco	N.A.	Latte scremato in polvere per la preparazione di 2 x 10 ml di tampone per campioni
Tampone di lavaggio (20x)	1 x 50 ml	Bianco	Incolore	Concentrato 20x per la preparazione di 1 litro di tampone Tris, pH 6,9 ± 0,2
PRONTI PER L'USO				
Componente	**Quantità**	**Colore del tappo**	**Colore della soluzione**	**Descrizione/Contenuto**
Coniugato IgA	1 x 15 ml	Rosso	Incolore	Immunoglobulina anti-umana A (IgA) coniugata a perossidasi di rafano
Substrato TMB	1 x 15 ml	Nero	Incolore	TMB stabilizzata/H_2O_2
Strip di membrana	24 strip	Colori di codifica: blu/giallo	N.A.	Antigeni rivestiti, vedere destinazione d'uso
Pinzette	1 unità ciascuno	N.A.	N.A.	N.A.
Vaschetta d'incubazione	3 unità	N.A.	N.A.	N.A.
Etichette per il tampone per campioni	2 unità	N.A.	N.A.	N.A.
Set card	1 pcs.	N/A	N/A	N/A
INFORMAZIONI RELATIVE AL PRODOTTO				
Certificato di controllo qualità			1 pezzo	
Istruzioni per l'uso			1 pezzo	
MATERIALI NECESSARI, MA NON FORNITI				
HELIA® Automated Blot System di Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG, cilindro da 1000 ml, pipetta o cilindro da 10 ml, pipette di precisione (15, 1000 µl), carta assorbente o carta da filtro. I nostri test sono progettati per essere utilizzati con acqua purificata secondo la definizione della Farmacopea degli Stati Uniti e della Farmacopea Europea.				

4 Conservazione e durata

Conservare tutti i reagenti e le strip di membrana a una temperatura compresa tra 2-8 °C / 35,6-46,4 °F nei contenitori originali. Dopo la preparazione, il tampone di lavaggio ricostituito e le strip aperte, il coniugato e il TMB sono stabili a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F per sei settimane. Il reagente bloccante ricostituito è stabile a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F per 3 settimane. Utilizzare i reagenti e le strip esclusivamente entro la data di scadenza indicata sul rispettivo componente. Non utilizzare i componenti dopo le date di scadenza. Evitare di esporre la soluzione TMB alla luce.

5 Precauzioni per l'uso e informazioni generali

5.1 Dati relativi ai rischi per la salute

Questo prodotto è indicato esclusivamente per l'uso DIAGNOSTICO IN VITRO. L'utilizzo di questo kit è consentito solo al personale addestrato, con esperienza nei metodi di diagnostica in vitro.

Tutti i componenti del kit sono classificati secondo il Regolamento (CE) n. 1272/2008 [CLP]. Per ulteriori informazioni sugli ingredienti, consultare la scheda di sicurezza (MSDS).

Le sostanze incluse nel cosiddetto "Elenco delle sostanze estremamente preoccupanti candidate all'autorizzazione" dell'Agenzia europea per le sostanze chimiche (ECHA) non sono componenti intenzionali di questo prodotto. Non è quindi previsto che queste sostanze siano contenute in quantità ≥ 0,1 % nel prodotto.

Conservare i reagenti in un luogo sicuro e inaccessibile ai bambini.

In particolare, la miscela non contiene sostanze classificabili come PBT o vPvB in concentrazioni ≥ 0,1 %.

I campioni dei pazienti devono essere considerati potenzialmente infettivi e manipolati secondo le normative nazionali. È necessario decontaminare i campioni dei pazienti e altri materiali potenzialmente infettivi dopo l'esecuzione del test.

5.2 Indicazioni generali per l'uso

Per distinguere i vari test quantitativi ***AESKUBLOTS®*** è presente un colore di codifica sopra la linea di riferimento delle strip:

Colore di codifica	***AESKUBLOTS®***
blu/giallo	Gluten Related Disorders IgA
blu/nero	Gluten Related Disorders IgG

Se le informazioni sul prodotto, etichette incluse, risultassero inesatte, contattare il produttore o il fornitore del kit.

Il reagente bloccante e il tampone di lavaggio sono intercambiabili tra lotti e kit dei test. Tutti gli altri componenti sono specifici per ciascun kit e non sono intercambiabili. Non scambiare i componenti dei reagenti tra i test diagnostici per le malattie autoimmuni e per Borrelia.

Non utilizzare recipienti in polistirene per manipolare coniugati.

Prima dell'uso, attendere che tutti i componenti raggiungano la temperatura ambiente (20-32 °C / 68-89,6 °F), miscelare bene e applicare il programma di incubazione consigliato per garantire prestazioni ottimali del test. Il test può essere eseguito in modo completamente automatico con l'analizzatore **HELIA® Automated Blot System** di Aesku.Diagnostics

Non esporre i componenti a temperature superiori a 37 °C / 98,6 °F.

Pipettare sempre la soluzione di substrato solo con puntali nuovi. Proteggere il reagente dalla luce. Non pipettare il coniugato con puntali utilizzati precedentemente con altri reagenti.

L'intensità di colore della banda non è necessariamente correlata ai titoli anticorpali ottenuti con altre metodologie di riferimento.

I campioni di donatori di sangue apparentemente normali possono contenere autoanticorpi.

Se il campione del paziente contiene livelli elevati di immunocomplessi o altri aggregati di immunoglobuline, non si possono escludere risultati falsi positivi dovuti a legami non specifici.

Per formulare la diagnosi clinica definitiva, il medico non deve tenere conto dei soli risultati del test, ma valutare tutti i risultati clinici e di laboratorio. È necessario verificare la diagnosi con diversi metodi diagnostici.

Inoltre, si consideri che, con una dieta priva di glutine, gli anticorpi specifici per la celiachia diminuiscono notevolmente fino a non essere più rilevabili.

6 Raccolta, manipolazione e conservazione dei campioni

Utilizzare preferibilmente campioni di siero o plasma raccolti di recente. Il prelievo di sangue deve essere effettuato in conformità alle normative locali. Non utilizzare campioni itterici, lipemici, emolizzati o contaminati da batteri. I campioni di siero con particelle in sospensione devono essere chiarificati mediante centrifugazione a bassa velocità (<1000 x g). I campioni di sangue devono essere raccolti in provette pulite, asciutte e vuote.

Dopo la separazione, i campioni di siero devono essere utilizzati entro 8 ore. In alternativa, i campioni possono essere conservati in flaconcini accuratamente sigillati fino a 48 ore, a una temperatura compresa tra 2-8 °C / 35,6-46,4 °F o congelati a -20 °C / -4 °F per periodi più lunghi. Evitare di congelare e scongelare ripetutamente i campioni. (Thomas: Labor und Diagnose; CLSI Guideline GP44-A4) Non utilizzare campioni inattivati termicamente (56 °C / 132,8 °F).

7 Procedura di analisi

7.1 Preparativi prima di iniziare

Verificare che non si siano formati cristalli salini nel concentrato. Se ciò dovesse verificarsi, riscaldare leggermente il concentrato (è sufficiente la temperatura ambiente) per sciogliere i cristalli.

Diluire il tampone di lavaggio concentrato in rapporto 1:20 con acqua distillata (ad esempio, 50 ml con 950 ml).

Per preparare un tampone campione: aggiungere 10 ml di tampone di lavaggio a un flacone di reagente bloccante e mescolare bene.

Posizionare le strisce reattive nell'orientamento corretto (linea di riferimento e codifica a colori verso l'alto) nei pozzetti di incubazione utilizzando delle pinzette (non toccare le strisce reattive con le mani). Conservare le strisce reattive non utilizzate nella confezione originale, ben chiusa, in un sacchetto asciutto e a bassa temperatura (2-8 °C/35,6-46,4 °F). Caricare lo strumento secondo le specifiche dell'***HELIA***® **Automated Blot System**.

Note importanti:

Il test deve essere eseguito in modo completamente automatico con l'HELIA® Automated Blot System di Aesku.Diagnostics. Il test corrispondente viene eseguito con il programma: 401005 GRD IgA.

È necessario utilizzare il certificato di analisi (CoA, acronimo inglese) specifico per ogni lotto.

7.2 Fasi del test manuale

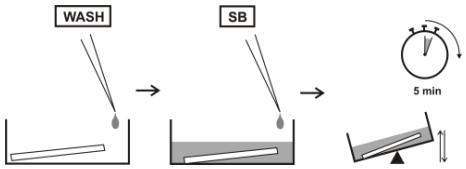
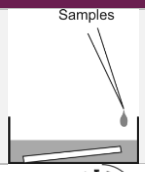
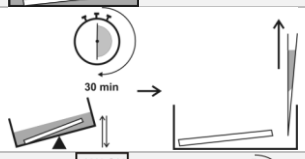
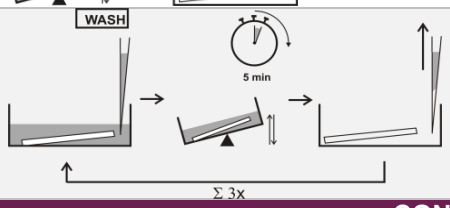
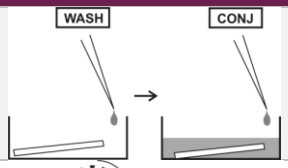
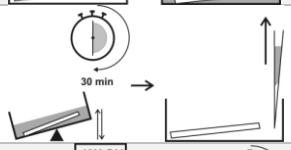
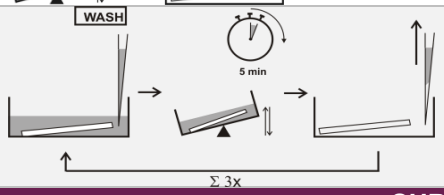
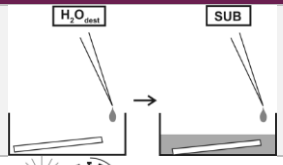
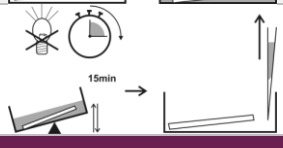
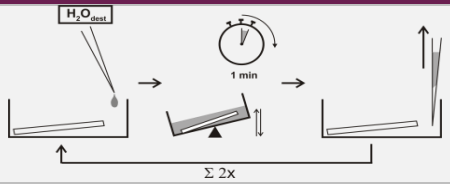
Note importanti:

Per l'elaborazione manuale, seguire la procedura di test descritta di seguito. Assicurarsi che i due componenti indicati nel protocollo siano aggiunti al vassoio nei passaggi 2, 6 e 9.
Non lasciare asciugare le strisce durante le fasi di incubazione. Non toccare le strisce con le dita, utilizzare delle pinzette.

Rimuovere completamente i campioni diluiti dopo l'incubazione delle strisce per evitare il trasferimento.

Agitare continuamente le strisce durante le fasi di incubazione.

Versare il tampone campione, il coniugato e il substrato insieme al tampone di lavaggio su un lato del vassoio di incubazione. Non lasciare che il liquido scorra sulle strisce.

Passaggio	Descrizione
1.	Prima di iniziare il test, verificare che le soluzioni siano state preparate adeguatamente.
2.	 Porre la strip correttamente orientata nella vaschetta d'incubazione (linea di riferimento e codice colore verso l'alto). Dispensare 1050 µl di tampone di lavaggio e 450 µl di tampone campione nella vaschetta d'incubazione. Inumidire la strip con la soluzione e incubare per 5 minuti in agitazione.
CONTROLLI E CAMPIONI	
3.	 Pipettare 15 µl of di campione di siero nelle vaschette d'incubazione designate con tampone campione.
4.	 Incubare per 30 minuti a una temperatura compresa tra 20-32 °C/68-89,6 °F con agitazione. Al termine, rimuovere completamente il campione.
5.	 Lavare 3 volte per 5 minuti con 1.8 ml di tampone di lavaggio mediante agitazione. Rimuovere il tampone di lavaggio dopo ogni fase di lavaggio.
CONIUGATO	
6.	 Pipettare 1050 µl di tampone di lavaggio e 450 µl di coniugato in ogni vaschetta d'incubazione con strip.
7.	 Incubare per 30 minuti a una temperatura compresa tra 20-32 °C/68-89,6 °F con agitazione. Rimuovere il coniugato.
8.	 Lavare 3 volte per 5 minuti con 1.8 ml ml di tampone di lavaggio mediante agitazione. Rimuovere il tampone di lavaggio dopo ogni fase di lavaggio.
SUBSTRATO	
9.	 Pipettare 1050 µl di H_2O e 450 µl di substrato in ogni vaschetta d'incubazione con strip.
10.	 Incubare per 15 minuti a una temperatura compresa tra 20-32 °C/68-89,6 °F con agitazione, al riparo da sorgenti luminose intense. Rimuovere il substrato.
STOP	
11.	 Pipettare 2 ml di H2O in ogni vaschetta d'incubazione con strip. Incubare per 1 minuto in agitazione. Rimuovere l'di H2O. Ripetere questo passaggio una volta.
12.	Inserire le strisce nel vassoio di incubazione di un lettore.

13.	Entro 20 minuti, le strisce bagnate possono essere valutate con un lettore.

8 Valutazione quantitativa

8.1 Analisi

La valutazione viene eseguita tramite il software integrato nel sistema automatizzato **HELIA® Automated Blot System o in un lettore**. Allo stesso tempo, il dispositivo controlla ogni striscia in base ai criteri di validità.

8.1.1 Analisi manuale utilizzando BLOTrix Reader con il software corrispondente

L'analisi delle strisce può essere eseguita manualmente utilizzando il software del BLOTrix system versione 4.2 o superiore. Per istruzioni dettagliate, consultare le istruzioni per l'uso del BLOTrix system.

Note importanti per l'interpretazione manuale:

- Si sconsiglia l'interpretazione visiva dei risultati dei test.
- I risultati dei test possono essere considerati validi se sono soddisfatti i seguenti criteri:
  - I comandi funzionali sono chiaramente visibili.
  - Gli standard da 1 a 3 sono visibili con intensità crescente.
  - Il controllo negativo mostra un segnale meno intenso rispetto allo standard 1

Se questi criteri non sono soddisfatti, il test è considerato non valido e deve essere ripetuto.

L'analisi quantitativa si basa sul confronto delle intensità cromatiche dei singoli antigeni con quelle degli standard. Il software del BLOTrix system calcola le intensità dei segnali ed esegue la valutazione di conseguenza.

8.1.2 Analisi automatizzata con HELIA® Automated Blot System

Quando si utilizza il HELIA® Automated Blot System o un lettore, la valutazione viene eseguita in modo completamente automatico. Il software integrato nel sistema determina il risultato in concentrazione arbitraria di IgA (U/ml).

Caratteristiche principali dell'analisi **HELIA® Automated Blot System**:

- Il software verifica automaticamente la validità di ciascuna striscia.
- Le intensità del segnale (valori della barra) delle linee di test vengono confrontate con una curva standard creata tracciando i valori di grigio degli standard rispetto alle loro concentrazioni note in U/ml.
- La valutazione si basa su un modello di adattamento della curva logistica a 4 parametri (4PL).
- Viene calcolata e visualizzata la concentrazione risultante in U/ml per ciascun antigene.

8.2 Interpretazione dei risultati

8.2.1 Interpretazione dei risultati IgA-totali

Risultati	Concentrazione di IgA arbitrarie (U/ml)
Carenza di IgA	< 18 U/ml
Livello normale di IgA	≥ 18 U/ml

8.2.2 Interpretazione dei risultati dei marcatori GRD

Risultati	Concentrazione IgA unità arbitrarie (U/ml)
Negativo	< 12 U/ml
Dubbio	≥ 12 < 18 U/ml
Debolmente positivo	≥ 18 < 30 U/ml
Positivo	≥ 30 < 200 U/ml
Fortemente positivo	≥ 200 U/ml

8.3 Note sulla validità e la qualità

Se i valori dei controlli non soddisfano i criteri di convalida predefiniti, il test è considerato non valido e deve essere ripetuto. Nei casi in cui si ottengono risultati equivoci o borderline, si raccomanda di ripetere il test utilizzando un nuovo campione per garantire l'affidabilità.

Verificare le cause più comuni di errore:

- Date di scadenza e conservazione dei reagenti.
- Calibrazione e funzionamento delle pipette e delle attrezzature.
- Accuratezza dei tempi e delle temperature di incubazione.

Se si verificano risultati insoliti o problemi di convalida non causati da errori dell'utente, contattare il produttore o il fornitore del kit.

I laboratori medici devono eseguire procedure interne di controllo qualità utilizzando sieri di controllo appropriati e seguire gli standard nazionali di laboratorio.

9 Dati tecnici

Materiale campione:	Siero / Plasma
Volume campione:	15 µl
Tempo di incubazione totale:	117 minuti a 20-32 °C / 68-89,6 °F
Range di misurazione:	0-300 U/ml
LoB:	Fare riferimento al capitolo 10.1
LoD:	Fare riferimento al capitolo 10.1
Conservazione:	a 2-8 °C / 35,6-46,4 °F; utilizzare solo flaconcini originali
Numero di determinazioni:	24 determinazioni

10 Dati di prestazione

10.1 Sensibilità analitica

Il limite del bianco (inglese: Limit of Blank = LoB), che corrisponde al limite di rilevazione del sistema di misurazione, è stato determinato ripetendo l'analisi del reagente bloccante 20 volte per ciascun antigene. Per tutti gli antigeni è stato determinato il seguente valore: 0,20 U/ml.

Il limite di rivelabilità (inglese: Limit of Detection = LoD) corrisponde al limite di rilevazione del sistema di misurazione. Il LoD è fissato a 0,58 U/ml per tutti gli antigeni.

10.2 Range di normalità

Il test ***AESKUBLOTS*®** **Gluten Related Disorders IgA** è stato utilizzato per analizzare sieri di donatori sani, ottenendo la distribuzione seguente:

Antigene	numero di campioni	valore medio [U/ml]	mediana [U/ml]	valore inferiore [U/ml]	valore superiore [U/ml]
Gliadina	120	2,31	1,30	0,05	14,56
DGP	120	0,67	0,20	0,03	9,16
tTG	120	1,86	0,86	0,04	15,06
tTG neo	120	0,22	0,11	0,02	1,84
TG3	120	1,08	0,51	0,06	12,18
mTG neo	120	0,71	0,33	0,03	6,06
mTG	120	0,38	0,14	0,03	8,59
Frazer's Fraction	120	0,46	0,25	0,05	4,99
IgA totali	120	29,69	29,73	11,40	47,57

Raccomandiamo che ogni laboratorio definisca il proprio range di normalità.

10.3 Precisione

La precisione dei risultati ottenuti con ***AESKUBLOTS®* Gluten Related Disorders IgA** è stata studiata determinando la precisione intra- e inter-test e la varianza fra lotti analizzando vari campioni con diverse concentrazioni.

I valori medi per tutti i campioni sono stati calcolati ed espressi in U/ml. Per i campioni nel range di positività, è indicato anche il CV in percentuale. Per i campioni nel range di negatività, compare l'indicazione neg che conferma i risultati negativi. È stata introdotta l'indicazione neg in quanto valori molto piccoli (con campioni negativi), pur con piccole differenze aumentate artificialmente, non determinano deviazioni significative.

Intra-test

		Gliadina	DGP	tTG	tTG neo	TG3	mTG neo	mTG	Frazer's Fraction	IgA totali
Campione 1	valore medio [U/ml]	1,24	9,96	1,05	97,77	48,21	26,36	0,10	0,49	20,81
	CV [%]	Neg.	Neg.	Neg.	19,40 %	17,66 %	19,25 %	Neg.	Neg.	15,42 %
Campione 2	valore medio [U/ml]	151,83	0,14	5,24	1,86	0,59	38,16	0,50	38,41	23,31
	CV [%]	14,66 %	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	17,70 %	Neg.	16,55 %	19,88 %
Campione 3	valore medio [U/ml]	4,81	56,15	292,35	300,0	0,77	176,67	0,19	6,86	23,47
	CV [%]	Neg.	14,22 %	9,51 %	0,00 %	Neg.	12,25 %	Neg.	Neg.	14,79 %
Campione 4	valore medio [U/ml]	0,48	0,44	0,43	0,36	0,95	0,21	0,13	0,08	19,67
	CV [%]	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	11,24 %
Campione 5	valore medio [U/ml]	0,49	0,16	0,91	0,87	1,81	1,00	182,25	0,24	39,22
	CV [%]	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	9,99 %	Neg.	18,93 %

Inter-test

		Gliadina	DGP	tTG	tTG neo	TG3	mTG neo	mTG	Frazer's Fraction	IgA totali
Campione 1	valore medio [U/ml]	1,41	13,75	1,04	197,85	28,60	28,83	0,28	1,11	22,57
	CV [%]	Neg.	20,70 %	Neg.	21,92 %	24,90 %	22,42 %	Neg.	Neg.	21,71 %
Campione 2	valore medio [U/ml]	145,75	0,41	5,07	3,55	0,76	36,42	0,26	36,82	20,75
	CV [%]	16,66%	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	19,06 %	Neg.	20,49 %	22,05 %
Campione 3	valore medio [U/ml]	5,23	59,80	207,97	300,0	0,58	177,42	0,12	8,86	24,24
	CV [%]	Neg.	20,63 %	15,87 %	0,00 %	Neg.	9,40 %	Neg.	Neg.	21,23 %
Campione 4	valore medio [U/ml]	1,30	1,05	1,75	4,64	2,54	0,38	0,77	1,31	29,93
	CV [%]	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	21,97 %
Campione 5	valore medio [U/ml]	0,76	0,25	3,18	3,53	2,38	1,12	99,68	0,36	41,74
	CV [%]	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	23,12 %	Neg.	20,21 %

Varianza fra lotti

		Gliadina	DGP	tTG	tTG neo	TG3	mTG neo	mTG	Frazer's Fraction	IgA totali
Campione 1	valore medio [U/ml]	1,30	15,31	3,36	240,09	15,56	32,73	0,30	1,96	28,03
	CV [%]	Neg.	25,59 %	Neg.	23,33 %	27,05 %	23,99 %	Neg.	Neg.	26,21 %
Campione 2	valore medio [U/ml]	135,10	0,55	6,96	7,74	1,86	37,35	0,90	40,90	29,04
	CV [%]	14,27 %	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	16,77 %	Neg.	20,60 %	22,84 %
Campione 3	valore medio [U/ml]	4,96	67,10	253,69	300,0	2,01	190,09	0,28	9,38	31,18
	CV [%]	Neg.	18,28 %	27,23 %	0,00 %	Neg.	12,61 %	Neg.	Neg.	24,95 %
Campione 4	valore medio [U/ml]	2,86	1,65	5,17	7,91	5,15	1,09	1,85	2,06	49,66
	CV [%]	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	20,38 %
Campione 5	valore medio [U/ml]	0,39	0,11	3,86	1,97	3,49	3,03	73,06	0,47	35,81
	CV [%]	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	Neg.	14,91 %	Neg.	17,74 %

10.4 Confronto con i concorrenti

Data la mancanza di dati clinici correlati a una dieta priva glutine per i campioni misurati, e poiché tali dati sono decisivi per la rilevazione di anticorpi specifici, i campioni sono stati caratterizzati in via preliminare con un test di riferimento. Sono stati considerati positivi i campioni risultati positivi con il test di riferimento e negativi quelli risultati negativi. I campioni borderline sono stati considerati negativi. Questo approccio presuppone che il test di riferimento identifichi correttamente i campioni, ma non esistono certezze in tal senso. È necessario condurre ulteriori studi in merito.

10.4.1 DGP e tTG

Gli antigeni DGP e tTG sono stati confrontati con un test LINE blot disponibile in commercio (test di riferimento certificato CE) per la determinazione degli anticorpi specifici della celiachia.

Patologia	DGP misurati	tTG misurati
Celiachia	11	23
Morbo di Crohn	31	31
Diabete mellito di tipo 1	23	23
Colite ulcerosa	22	22
Gastroenterite	23	23
Intolleranza al lattosio	17	17
Controlli sani	60	60

DGP		Test di riferimento		
		Positivo	Negativo	Totali
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	7	1	8
	Negativo	7	172	179
	Totali	14	173	187

DGP	[%]	95 % CI
Sensibilità	50,0	26,8 – 73,20
Specificità	99,4	96,80 – 99,97
Concordanza totale	95,7	91,8 – 97,8

Nel gruppo esaminato, pre-caratterizzato con un test di riferimento, è stata determinata una sensibilità del 50,0 % con una specificità del 99,4 % in relazione al sistema di riferimento. I valori ottenuti si basano sull'ipotesi che il test di riferimento classifichi correttamente tutti i campioni. L'antigene DGP è molto probabilmente costituito da due diverse varianti peptidiche.

tTG		Test di riferimento		
		Positivo	Negativo	Totali
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	23	2	25
	Negativo	1	173	174
	Totali	24	175	199

tTG	[%]	95 % CI
Sensibilità	95,8	79,8 – 99,8
Specificità	98,9	95,9 – 99,8
Concordanza totale	98,5	95,7 – 99,5

Nel gruppo esaminato, pre-caratterizzato con un test di riferimento, è stata determinata una sensibilità del 95,8 % con una specificità del 98,9 % in relazione al sistema di riferimento. I valori ottenuti si basano sull'ipotesi che il test di riferimento classifichi correttamente tutti i campioni.

10.4.2 Gliadina e tTG neo

Gli antigeni gliadina e tTG neo sono stati confrontati con test ELISA disponibili in commercio (prodotti certificati CE di Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG) per la determinazione degli anticorpi diretti contro la gliadina e il tTG neo.

Patologia	Gliadina misurati	tTG neo misurati
Celiachia	10	40
Morbo di Crohn	31	31
Diabete mellito di tipo 1	23	23
Colite ulcerosa	24	24
Gastroenterite	23	23
Intolleranza al lattosio	17	17
Controlli sani	100	100

Gliadina		Test di riferimento		
		Positivo	Negativo	Totali
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	11	6	17
	Negativo	3	208	211
	Totali	14	214	228

Gliadina	[%]	95 % CI
Sensibilità	78,6	52,4 – 92,4
Specificità	97,2	94,0 – 98,7
Concordanza totale	96,1	92,7 – 97,9

Nel gruppo esaminato è stata determinata una sensibilità del 78,6 % con una specificità del 97,2 % in relazione al sistema di riferimento. I valori determinati si basano sull'ipotesi che il test di riferimento classifichi correttamente tutti i campioni.

tTG neo		Test di riferimento		
		Positivo	Negativo	Totali
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	27	0	27
	Negativo	15	216	231
	Totali	42	216	258

tTG neo	[%]	95 % CI
Sensibilità	64,3	49,2-77,0
Specificità	100	93,3-100,0
Concordanza totale	94,2	90,6-96,4

Nel gruppo esaminato è stata determinata una sensibilità del 64,3 % con una specificità del 100,0 % in relazione al sistema di riferimento. I valori ottenuti si basano sull'ipotesi che il test di riferimento classifichi correttamente tutti i campioni.

10.4.3 TG3

L'antigene TG3 è stato confrontato con un test ELISA disponibile in commercio per la determinazione degli anticorpi IgA diretti contro TG3. A tale scopo, 27 campioni di pazienti con dermatite erpetiforme sono stati pre-caratterizzati con un test di riferimento certificato CE e confrontati con il test ***AESKUBLOTS*® Gluten Related Disorders IgA** (i risultati borderline sono stati considerati negativi).

TG3		Test di riferimento		
		Positivo	Negativo	Totali
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	8	1	9
	Negativo	3	15	18
	Totali	11	16	27

TG3	[%]	95 % CI
Sensibilità	72,7	43,4 – 90,3
Specificità	93,8	71,7 – 99,7
Concordanza totale	85,2	67,5 – 94,1

Nel gruppo esaminato sono state determinate una sensibilità del 72,7 % e una specificità del 93,8 % in relazione al sistema di riferimento. I valori determinati si basano sull'ipotesi che il test di riferimento classifichi correttamente tutti i campioni.

10.4.4 mTG neo e mTG

Non esistono attualmente sul mercato prodotti di confronto per gli antigeni mTG neo e mTG. Tuttavia, è stato possibile eseguire un test comparativo utilizzando i kit ELISA RUO (Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG) per la determinazione degli anticorpi contro mTG neo e mTG.

Patologia	mTG neo misurati	mTG misurati
Celiachia	33	102
Morbo di Crohn	31	31
Diabete mellito di tipo 1	23	23
Colite ulcerosa	24	24
Gastroenterite	23	23
Intolleranza al lattosio	17	17
Controlli sani	100	100

mTG neo		Test di riferimento		
		Positivo	Negativo	Totali
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	41	1	42
	Negativo	9	200	209
	Totali	50	201	251

mTG neo	[%]	95 % CI
Sensibilità	82,0	69,2 – 90,2
Specificità	99,5	97,2 – 99,9
Concordanza totale	96,0	92,8 – 97,8

Nel gruppo esaminato è stata determinata una sensibilità del 82,0 % con una specificità del 99,5 % in relazione al sistema di riferimento. I valori determinati si basano sull'ipotesi che il test di riferimento classifichi correttamente tutti i campioni.

mTG		Test di riferimento		
		Positivo	Negativo	Totali
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	0	3	3
	Negativo	1	316	317
	Totali	1	319	320

mTG	[%]	95 % CI
Sensibilità	0,0	0,0 – 94,87
Specificità	99,1	97,27 – 99,74
Concordanza totale	98,8	96,8 – 99,5

Studi precedenti hanno dimostrato che gli anticorpi diretti contro la mTG stessa sono molto rari. Questa ipotesi ha potuto trovare conferma per ***AESKUBLOTS*® Gluten Related Disorders IgA**. È stata determinata una specificità del 99,1 % rispetto al sistema di riferimento. I valori determinati si basano sull'ipotesi che il test di riferimento classifichi correttamente tutti i campioni.

10.5 Linearità

Per sieri selezionati è stato possibile determinare una relazione lineare tra la diluizione e la concentrazione di anticorpi in questo test. Tutti i campioni elencati presentano un valore $R^2 > 0,95$. Tuttavia, a causa dell'eterogeneità degli anticorpi umani, non si può escludere che singoli sieri mostrino un comportamento non lineare.

Antigen	Campione 1	Campione 2	Campione 3	Campione 4
	R^2	R^2	R^2	R^2
Gliadina	0,965	0,953	0,959	-
DGP	0,963	0,969	0,971	0,956
tTG	0,996	0,951	0,970	-
tTG neo	0,997	0,961	0,959	-
TG3	0,976	0,958	-	-
mTG neo	0,998	0,960	0,965	-
mTG	0,956	0,984	0,974	-
Frazer's Fraction	0,995	0,960	0,955	0,952

10.6 Calibrazione

Il sistema di misurazione quantitativa è calibrato in unità provvisorie per la mancanza di uno standard di riferimento internazionale. I risultati sono espressi in U/ml.

11 Smaltimento

Rispettare le prescrizioni di legge applicabili.

12 Nota per l'utente (Unione europea)

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui risiedono l'utilizzatore e/o il paziente.

13 Bibliografia

Elli, L., Branchi, F., Tomba, C., Villalta, D., Norsa, L., Ferretti, F., . . . Bardella, N. T. (21. Juni 2015). Diagnosis of gluten related disorders: Celiac disease, wheat allergy and non-celiac gluten sensitivity. World Journal of Gastroenterology, S. 7110-7119.

Lerner, A., Aminov, R., & Matthias, T. (24. 01 2017). Transglutaminases in Dysbiosis As Potential Environmental Drivers of Autoimmunity. frontiers in Microbiology. 8:66, S. 1-7.

Lerner, A., Jeremias, P., Neidhöfer, S., & Matthias, T. (2015). Antibodies against neo-epitope tTg complexed to gliadin are different and more reliable then anti-tTg for the diagnosis of pediatric celiac disease. Journal of Immunological Methods, S. 1-6.

Lytton, S.D. et al. (2013). Neo-pitope tissue transglutaminase autoantibodies as a biomarker of the gluten sensitive skin disease – dermatitis herpetiformis. Clinica Chimica Acta, Volume 415, 16. January 2013, Pages 346-349

Mahadev, S.; Green, P.H.R. (08.08.2011). Review Celiac Disease: A challenge for all physicians. Gastroenterology & Hepatology (7), S. 554-556

Matthias, T., Jeremias, P., Neidhöfer, S., & Lerner, A. (15. September 2016). The industrial food additive, microbial transglutaminase, mimics tissue transglutaminase and is immunogenic in celiac disease patients. Autoimmunity Reviews (15), S. 1111-1119.

Nejad, M. R., Karkhane, M., Marzban, A., Mojarad, E. N., & Rostami, K. (9. März 2012). Gluten related disorders. Gastroenterology and Hepatology From Bed to Bench, S. 1-7.

Schuppan, D., & Zimmer, K.-P. (06. 12 2013). Diagnostik und Therapie der Zöliakie. Deutsches Ärzteblatt, S. 835 - 846.

Singh, P., Arora, A., Strand, T.A., Leffler, D.A., Catassi, C., Green, P.H., Kelly, C.P., Ahuja, V., Makharia, G.K. (2018) Global prevalence of celiac disease: systemic review and meta-analysis. Clinical Gastroenterology and Hepatology 2018; 16:823-836

General Literature:

Peter JB, Shoenfeld Y (1996). Autoantibodies. Elsevier Sciences B.V., Amsterdam.

Lothar Thomas: Labor und Diagnose. Indikation und Bewertung von Laborbefunden für die medizinische Diagnostik., 8. Auflage, TH Books

CLSI Guideline GP44-A4: Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests

14 Simboli normativi

IVD	¨ Diagnosi in vitro	¨ For in vitro diagnostic use
	¨ Pour diagnostic in vitro	¨ Para uso diagnóstico in vitro
	¨ In Vitro Diagnostikum	¨ In Vitro Διαγνωστικό μέσο
	¨ Para uso Diagnóstico in vitro	
REF	¨ Numero d'ordine	¨ Cataloge number
	¨ Référence Catalogue	¨ Numéro de catálogo
	¨ Bestellnummer	¨ Αριθμός παραγγελίας
	¨ Número de catálogo	
LOT	¨ Descrizione lotto	¨ Lot
	¨ Lot	¨ Lote
	¨ Chargen Bezeichnung	¨ Χαρακτηρισμός παρτίδας
	¨ Lote	
UDI	¨ Identificatore univoco del dispositivo	¨ Unique Device Identifier
	¨ Identifiant unique de l'appareil	¨ Identificador único del dispositivo
	¨ eindeutige Produktidentifizierung	¨ Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής
	¨ Identificador único do dispositivo	
CE	¨ Conformità europea	¨ EC Declaration of Conformity
	¨ Déclaration CE de Conformité	¨ Declaración CE de Conformidad
	¨ Europäische Konformität	¨ Ευρωπαϊκή συμφωνία
	¨ Déclaracão CE de Conformidade	
Σ 24	¨ 24 determinazioni	¨ 24 tests
	¨ 24 tests	¨ 24 pruebas
	¨ 24 Bestimmungen	¨ 24 προσδιορισμοί
	¨ 24 Testes	
	¨ Rispettare le istruzioni per l'uso	¨ See instructions for use
	¨ Voir les instructions d'utilisation	¨ Ver las instrucciones de uso
	¨ Gebrauchsanweisung beachten	¨ Λάβετε υπόψη τις οδηγίες χρήσης
	¨ Ver as instrucões de uso	
	¨ Da utilizzarsi entro	¨ Use by
	¨ Utilise avant le	¨ Utilizar antes de
	¨ Verwendbar bis	¨ Χρήση μέχρι
	¨ Utilizar antes de	
+2°C +8°C	¨ Conservare a 2-8°C (35.6-46.4°F)	¨ Store at 2-8°C (35.6-46.4°F)
	¨ Conserver à 2-8°C (35.6-46.4°F)	¨ Conservar a 2-8°C (35.6-46.4°F)
	¨ Lagerung bei 2-8°C (35.6-46.4°F)	¨ Φυλάσσεται στους 2-8°C (35.6-46.4°F)
	¨ Conservar entre 2-8°C (35.6-46.4°F)	
	¨ Prodotto da	¨ Manufactured by
	¨ Fabriqué par	¨ Fabricado por
	¨ Hergestellt von	¨ Κατασκευάζεται από
	¨ Fabricado por	
STRIP	¨ Strip di nitrocelluslosa rivestita	¨ Coated nitrocellulose strip
	¨ Strip de nitrocellulose couché	¨ Tira de nitrocelulosa recubierta
	¨ Nitrozellulosemembran-Streifen mit aufgebrachten Antigenen	¨ Επίστρωση λωρίδα νιτροκυτταρίνης
	¨ Tira de nitrocelulose revestido	
WASH 20x	¨ Tampone di lavaggio	¨ Wash buffer
	¨ Tampon de Lavage	¨ Solución de lavado
	¨ Waschpuffer	¨ Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	¨ Solucão de lavagem	
BLOCK-REAG	¨ Reagente bloccante	¨ Blocking Reagent
	¨ réactif de blocage	¨ Reactivo bloqueante
	¨ Blockier-Reagenz	¨ Αντιδραστήριο αποκλεισμού
	¨ Bloqueio de reagente	
RCNS 10ml	¨ Ricostituire con 10 mL	¨ Reconstitute with 10 mL
	¨ reconstituer avec 10 mL	¨ reconstituir con 10 mL
	¨ rekonstituiren mit 10 mL	¨ Ανασύσταση με 10 mL
	¨ reconstituir com 10 mL	
SB	¨ Tampone campione	¨ Sample buffer
	¨ Tampon Echantillons	¨ Tampón Muestras
	¨ Probenpuffer	¨ Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	¨ Diluente de amostra	
CONJ	¨ Coniugato	¨ Conjugate
	¨ Conjugé	¨ Conjugado
	¨ Konjugat	¨ Σύζευγμα
	¨ Conjugado	
SUB	¨ Tampone substrato	¨ Substrate buffer
	¨ Substrat	¨ Tampón sustrato
	¨ Substratpuffer	¨ Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	¨ Substrato	