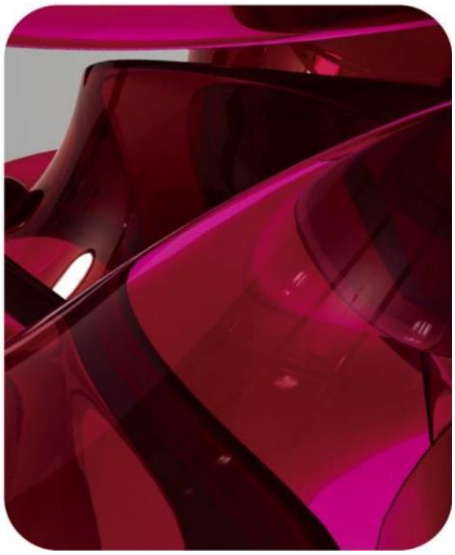
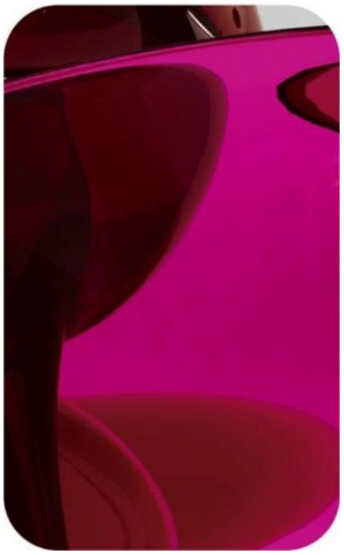
AESKU.DIAGNOSTICS

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS







AESKUBLOTS®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

MANUAL DE INSTRUCCIONES

AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA

Ref 401005

CE

Manual de instrucciones

Índice

1 Uso previsto 1
2 Aplicaciones clínicas y principio del análisis 1
3 Contenido del kit 5
4 Almacenamiento y caducidad 5
5 Precauciones de uso e instrucciones generales 6
6 Obtención, manipulación y almacenamiento de las muestras 7
7 Procedimiento del ensayo 8
8 Evaluación cuantitativa 10
9 Datos técnicos 12
10 Datos de funcionamiento 12
11 Eliminación del producto 20
12 Nota para el usuario (Unión Europea) 20
13 Bibliografía 21
14 Símbolos reglamentario 22

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 Uso previsto

***AESKUBLOTS*® Gluten Related Disorders IgA** es un enzimoinmunoensayo de membrana para la detección cuantitativa de anticuerpos de la subclase IgA frente a gliadina, DGP, tTG, tTG neo, TG3, mTG neo, mTG y Frazer's Fraction en suero o plasma humano. Los antígenos se aplican en forma de líneas sobre una membrana de nitrocelulosa en posiciones definidas.

La prueba se utiliza como referencia para el diagnóstico de trastornos relacionados con el gluten, como la enfermedad celíaca o la sensibilidad al gluten no celíaca. Esta prueba no permite la detección en muestras de pacientes que siguen una dieta sin gluten.

El kit de pruebas está reservado para uso profesional en laboratorios.

2 Aplicaciones clínicas y principio del análisis

Los trastornos relacionados con el gluten (inglés: Gluten Related Disorders (GRD)) son trastornos sistémicos provocados por el gluten, como la enfermedad celíaca (inglés: Celiac Disease (CD)), la sensibilidad al gluten no celíaca (inglés: non-celiac gluten sensitivity (NCGS)), la dermatitis herpetiforme (DH) y la alergia al trigo.

Dichos trastornos se pueden clasificar en varios grupos:

- Trastornos autoinmunitarios: enfermedad celíaca (CD), dermatitis herpetiforme (DH).
- No autoinmunitarios, no alérgicos: trastornos con causa desconocida, probablemente inmunomodulados: sensibilidad al gluten no celíaca (NCGS).
- Alérgicos: alergia alimentaria (mediada y no mediada por IgE), anafilaxia inducida por ejercicio dependiente del trigo (inglés: wheat-dependent exercise-included anaphylaxis (WDEIA)), asma del panadero, dermatitis de contacto.

Enfermedad celíaca

La enfermedad celíaca es una enfermedad inflamatoria frecuente del intestino delgado que puede manifestarse sistémicamente y está provocada por el consumo de alimentos con gluten. El gluten es una mezcla de proteínas incluida en varios tipos de cereales (p. ej., trigo, cebada, centeno) y actúa como «adhesivo proteico». La proteína más importante para el desarrollo de la enfermedad celíaca es la gliadina.

La prevalencia de enfermedad celíaca se estima entre el 0,5 % y el 1,0 %, con una tendencia ascendente, y puede manifestarse a cualquier edad. En consecuencia, tanto adultos como niños se ven afectados en proporciones aproximadamente iguales. Además de la inflamación habitual de la mucosa del intestino delgado, las personas afectadas también presentan síntomas como cansancio, dolor abdominal y diarrea, así como pérdida de peso, anemia, problemas de fertilidad, baja estatura y osteoporosis como resultado de la absorción insuficiente de nutrientes.

Los pacientes afectados presentan los genotipos HLA-DQ2 o -DQ8 como predisposición genética. Otro factor desencadenante es la gliadina ingerida a través de los alimentos, que solo se digiere parcialmente en el intestino. En pacientes con enfermedad celíaca, los péptidos de gliadina residuales pueden pasar a través del epitelio del intestino delgado y alcanzar el tejido conectivo subyacente. En este caso, la transglutaminasa tisular provoca tanto la desamidación como la

transamidación (formación de complejos) de los fragmentos de proteína. Durante la desamidación, el aminoácido glutamina se convierte en ácido glutámico. Si existe predisposición genética, estos péptidos modificados se presentan gradualmente al sistema inmunitario mediante células presentadoras de antígenos. Como consecuencia, se generan anticuerpos frente a los epítopos de gliadina desamidados específicos y, como resultado de la llamada difusión de epítopos, también frente la propia enzima tTG del cuerpo. A su vez, esto provoca inflamación y daños en la mucosa del intestino delgado, que también se puede reconocer histológicamente por una estructura vellosa atrófica y criptas hiperplásicas intestinales.

La biopsia del intestino delgado se sigue considerando la prueba de referencia. La enfermedad celíaca se puede clasificar en 3 tipos de acuerdo con la gravedad de la histopatología intestinal:

Marsh tipo I: proliferación de linfocitos intraepiteliales (LIE) con arquitectura mucosa normal.

Marsh tipo II: hiperplasia de criptas adicional con vellosidades todavía normales.

Marsh tipo III: proliferación de LIE, hiperplasia de criptas, degeneración de las células epiteliales y densificación de las vellosidades.

Si la enfermedad celíaca se diagnostica en los pacientes afectados, aquellos que han seguido una dieta sin gluten permanentemente presentan mejoría en los síntomas Al cabo de 3 - 12 meses, la serología celíaca se normaliza (los anticuerpos ya no se pueden detectar) y la inflamación intestinal también se reduce, aunque lentamente.

Dermatitis herpetiforme

La dermatitis herpetiforme es una manifestación de la enfermedad celíaca en la piel. Las personas afectadas siempre presentan prurito muy pronunciado e insoportable en la fase aguda. Las primeras manifestaciones en la piel son leves, con manchas rojizas de pequeño tamaño (rara vez grandes) y que en último término se convierten en vesículas.

El diagnóstico se realiza mediante detección óptica por inmunofluorescencia de los depósitos granulares de IgA en la piel no afectada. Además, en este caso también se debe realizar una pequeña biopsia intestinal, ya que los pacientes presentan los mismos cambios en la mucosa del intestino delgado que aquellos afectados por la enfermedad celíaca, a pesar de tener menos síntomas. En este tipo especial de enfermedad celíaca, se forman anticuerpos frente a la transglutaminasa (TG3) del tejido epidérmico del propio organismo, entre otros; en este caso, dichos anticuerpos se han establecido como marcadores serológicos.

Sensibilidad al gluten no celíaca (NCGS)

No existe una definición aceptada generalmente de la NCGS. Varios síntomas gastrointestinales no específicos, pero también síntomas extraintestinales que se producen en conexión con el consumo de alimentos que contienen gluten, se consideran característicos de la NCGS. Un requisito previo para el diagnóstico de la NCGS es, por una parte, una mejora significativa de los síntomas con una dieta sin gluten y, por otra, una exclusión clara de enfermedad celíaca.

La fisiopatología todavía no se ha determinado adecuadamente, pero los estudios sugieren que no solo el gluten, sino también los inhibidores de amilasa-tripsina (ATI, por sus siglas en inglés), que

se dan en alta concentración especialmente en las especies de trigo modernas, pueden desempeñar un papel clave en la patogénesis.

La presentación clínica de la NCGS se caracteriza por síntomas gastrointestinales no específicos, por lo que no solo es similar a la enfermedad celíaca, sino también al síndrome del colon irritable. Se pueden observar los siguientes síntomas: dolor abdominal, diarrea, distensión abdominal, nausea, vómitos, cefalea, molestias musculares o fatiga crónica.

Si la anamnesis revela una relación temporal entre la ingestión de gluten y los síntomas, otras enfermedades asociadas al gluten, como la enfermedad celíaca y la alergia al trigo, se deberán descartar como primer paso a la hora de establecer un diagnóstico. En caso de que ni la enfermedad celíaca ni la alergia al trigo se consideren la causa de los síntomas, se puede seguir una dieta de eliminación de gluten y productos del trigo como opción de tratamiento. La remisión de forma clara y persistente de los síntomas indica la presencia de NCGS.

Los anticuerpos contra:

- **Gliadin:** Los anticuerpos contra la gliadina aumentan significativamente en personas sin enfermedad celíaca con úlceras bucales y se observan frecuentemente en pacientes con EC, en menor grado también con carácter subclínico, así como en un subconjunto de individuos que no sufren la enfermedad.

- **DGP:** (péptidos de gliadina desaminados): en estudios recientes se ha demostrado que los anticuerpos específicos antigliadina de pacientes con enfermedad celíaca se unen a un número muy limitado de epítopos específicos en la molécula de gliadina. Asimismo, la desamidación selectiva de la gliadina por la transglutaminasa del tejido mejora la unión de los anticuerpos antigliadina. Por lo tanto, los sistemas de prueba en los que se utilizan péptidos desamidados y definidos ofrecen una mayor precisión de diagnóstico que la pruebas antigliadina anteriores.

- **tTG:** la enzima tTG permite un diagnóstico más sencillo y más fiable de la enfermedad celíaca. Se libera cuando se produce daño celular e interviene en las reparaciones celulares. Los anticuerpos anti-tTG ofrecen mayor sensibilidad y especificidad para la detección de la enfermedad celíaca que los anticuerpos antigliadina y presentan un estrecha correlación con la actividad de la enfermedad.

- **tTG neo:** la reticulación de la tTG (transamidación) con los péptidos específicos de gliadina induce la formación de neoepítopos con tTG. Puesto que estos neoepítopos son más similares estructuralmente a los epítopos fisiológicos que utilizaron previamente antígenos, el neoepítopo del antígeno tTG ofrece un incremento significativo en la sensibilidad y especificidad. Los estudios también han demostrado que el neoepítopo de la tTG se puede emplear como marcador de la dermatitis herpetiforme.

- **TG3:** la transglutaminasa 3, o transglutaminasa epidérmica, se expresa en la epidermis. las mutaciones de la TG3 provocan, entre otras cosas, el síndrome del cabello impeinable o dermatitis herpetiforme (o enfermedad de Duhring). Este último síndrome es una enfermedad cutánea perteneciente al grupo de la dermatosis ampollosa autoinmunitaria. Además de las vesículas y nódulos con prurito manifiesto, la enfermedad celíaca es una de las causas de este trastorno. Se ha demostrado que la TG3 es un marcador extremadamente sensible que permite un diagnóstico más preciso de dermatitis herpetiforme.

- **mTG neo:** la transglutaminasa microbiana (mTG) se utiliza frecuentemente como aditivo en la industria alimentaria. Al igual que la tTG, la mTG es capaz de reticularse con los péptidos de gliadina y formar los llamados neoepítopos de la mTG. Se pueden observar anticuerpos anti-neoepítopo de la mTG en pacientes con enfermedad celíaca, y su presencia está correlacionada con la escala de Marsh. Es más, se pueden encontrar neoepítopos de la mTG en otras enfermedades asociadas con el gluten, como la NCGS.

- **mTG:** la transglutaminasa microbiana (mTG) se utiliza como aditivo frecuente en la industria alimentaria. Es la principal causa de la formación de los llamados neoepítopos de la mTG, que se sospecha que pueden ser un factor desencadenante de la enfermedad celíaca. Sin embargo, los anticuerpos frente a la propia enzima son raros.

- **Frazer's Fraction:** Consiste en una gliadina digerida con pepsina y tripsina. En 1959, Frazer *et al.* demostraron que la ingesta oral de Frazer's Fraction era dañina para los pacientes celíacos. La hipótesis es que una mezcla natural de péptidos de gliadina aumenta significativamente la sensibilidad y especificidad de los anticuerpos antigliadina detectados en la prueba. Sin embargo, este supuesto todavía no se ha demostrado.

- **IgA total:** para la detección de deficiencia de la IgA. Más del 2 % de los pacientes con enfermedad celíaca presentan deficiencias de IgA y, en consecuencia, pruebas negativas de autoanticuerpos IgA incluso con enfermedad activa. En caso de deficiencia de IgA demostrada, se recomienda un análisis de anticuerpos IgG.

Principio de la prueba

Los antígenos se aplican en forma de líneas sobre una membrana de nitrocelulosa. La membrana se bloquea para impedir reacciones no específicas. Las tiras de membrana con antígenos específicos en posiciones definidas exactamente se incuban en muestras de suero o plasma diluidas 1:101. Los anticuerpos del paciente, si están presentes en la muestra, se unen al antígeno. La fracción no unida es eliminada por lavado en el paso siguiente. Después se incuban inmunoglobulinas anti-humanas conjugadas con peroxidasa de rábano picante (conjugado), que reaccionan con el complejo antígeno-anticuerpo de las muestras. El conjugado no unido se elimina por lavado en el paso siguiente. Tras la adición del sustrato TMB, una reacción enzimática convierte el conjugado en un precipitado azul. La reacción se detiene mediante agua destilada.

3 Contenido del kit

PARA SER RECONSTITUIDO				
Artículo	**Cantidad**	**Color del tapón**	**Color de la solución**	**Descripción/Contenido**
Reactivo bloqueante	2 para 10 ml de concentrado cada uno	Blanco	N/A	Leche desnatada en polvo para preparación de 2 tampones para muestra de 10 ml
Tampón de lavado (20x)	1 x 50 ml	Blanco	incoloro	Concentrado 20 veces para preparación de 1 l tampón Tris, pH 6,9 ± 0,2
LISTO PARA EL USO				
Artículo	**Cantidad**	**Color del tapón**	**Color de la solución**	**Descripción/Contenido**
Conjugado IgA	1 x 15 ml	Rojo	incoloro	Inmunoglobulina anti-humana A (IgA) conjugada con peroxidasa de rábano picante
Sustrato TMB	1 x 15 ml	Negro	incoloro	TMB/H_2O_2 estabilizada
Tiras de membrana	24 tiras	Código de color: azul/ amarillo	N/A	Antígenos recubiertos, véase Uso previsto
Pinzas	1 por cada kit	N/A	N/A	N/A
Bandeja de incubadora	3 por cada kit	N/A	N/A	N/A
Etiquetas de tampón para muestra	2 por cada kit	N/A	N/A	N/A
Set card	1 pcs.	N/A	N/A	N/A
INFORMACIÓN RELACIONADA CON EL PRODUCTO				
Certificado de control de calidad			1 pieza	
Instrucciones de uso			1 pieza	
MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO				
HELIA® Automated Blot System de Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG, cilindro para 1000 ml, cilindro o pipeta para 10 ml, pipetas de precisión (15, 1000 µl), papel de filtro o absorbente. Nuestras pruebas se han diseñado para uso con agua destilada, de acuerdo con la definición de las farmacopeas de Estados Unidos y Europa.				

4 Almacenamiento y caducidad

Mantenga todos los reactivos y tiras de membrana a 2-8 °C/35,6-46,4 °F en sus recipientes originales. Una vez preparados, el tampón de lavado reconstituido, así como las tiras abiertas, el conjugado y el TMB permanecen estables a 2-8 °C/35,6-46,4 °F durante seis semanas. El reactivo bloqueante reconstituido es estable a 2-8 °C/35,6-46,4 °F durante tres semanas. Los reactivos y las tiras deberán utilizarse antes de la fecha de caducidad indicada en cada componente. No utilice los componentes una vez superada su fecha de caducidad. Evite la exposición a de la solución TMB a luz intensa.

5 Precauciones de uso e instrucciones generales

5.1 Datos de riesgo para la salud

Este producto se ha diseñado exclusivamente para DIAGNÓSTICO IN VITRO. En consecuencia, el kit solo puede ser utilizado por personal con la cualificación apropiada y formación especial sobre métodos de diagnóstico *in vitro*.

Todos los componentes del kit están clasificados según el Reglamento (CE) n.º 1272/2008 [CLP]. Consulte la ficha de datos de seguridad del material para obtener más información sobre los ingredientes.

Las sustancias enumeradas en la «Lista de sustancias candidatas extremadamente preocupantes en procedimiento de autorización» de la Agencia Europea de Sustancias y Mezclas Químicas (ECHA) son componentes no intencionales de este producto. Por tanto, no cabe esperar que estas sustancias estén contenidas en cantidades ≥ 0,1 % en el producto.

Los reactivos se deben almacenar de forma segura y fuera del alcance de los niños.

En particular, la mezcla no contiene sustancias en concentraciones ≥ 0,1 % que deban clasificarse como PBT o mPmB.

Las muestras de paciente se deben considerar potencialmente infecciosas y manipular de acuerdo con las leyes nacionales. Las muestras de paciente y otros materiales potencialmente infecciosos se deben descontaminar después de la serie de pruebas.

5.2 Instrucciones generales de uso

A fin de diferenciar los distintos análisis cuantitativos ***AESKUBLOTS®*** disponibles, se aplica una codificación por colores encima de la línea de referencia de las tiras:

Código de color	***AESKUBLOTS®***
azul/amarillo	Gluten Related Disorders IgA
azul/negro	Gluten Related Disorders IgG

En caso de que observe datos incorrectos en la información del producto, incluidas las etiquetas, póngase en contacto con el fabricante o proveedor del producto.

El reactivo bloqueante y el tampón de lavado se pueden intercambiar entre lotes y kits de análisis. Los componentes restantes son específicos de cada kit de análisis y no se deben intercambiar.

No utilice recipientes de poliestireno para manipular el conjugado.

Permita que todos los componentes alcancen la temperatura ambiente (20-32 °C/68-89,6 °F) antes de utilizarlos, mézclelos bien y siga el esquema de incubación recomendado para conseguir un rendimiento óptimo. La prueba debe realizarse de forma totalmente automática con el **HELIA® Automated Blot System** de Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG.

No exponga nunca los componentes a temperaturas superiores a los 37 °C/98,6 °F.

Pipetee siempre la solución de sustrato con puntas completamente nuevas. Proteja el reactivo de la luz. No pipetee nunca el conjugado con puntas utilizadas anteriormente con otros reactivos.

La intensidad del color de banda no está necesariamente correlacionada con los títulos de anticuerpos obtenidos mediante otras metodologías de referencia.

Las muestras obtenidas de donantes de sangre aparentemente sanos pueden contener autoanticuerpos.

Si la muestra del paciente contiene niveles elevados de inmunocomplejos u otros agregados de inmunoglobulina, no se podrán descartar falsos positivos provocados por uniones no específicas.

El diagnóstico clínico definitivo no debería fundamentarse únicamente en los resultados de la prueba realizada, sino que debería llevarlo a cabo el médico una vez evaluados todos los datos clínicos y analíticos. El diagnóstico debe verificarse utilizando diferentes métodos de diagnóstico.

Asimismo, cabe destacar que, al seguir una dieta sin gluten, los anticuerpos específicos para enfermedad celíaca se reducen significativamente hasta que dejan de detectarse.

6 Obtención, manipulación y almacenamiento de las muestras

Deben utilizarse preferentemente muestras de suero/plasma recién extraídas. La extracción de sangre debe cumplir los requisitos de protocolo de su país. No deben utilizarse muestras ictéricas, lipémicas, hemolizadas o contaminadas con bacterias. Las muestras de suero con partículas se deben purificar mediante centrifugación a baja velocidad (<1000 x g). Las muestras de sangre deben recogerse en tubos limpios, secos y vacíos.

Las muestras de suero/plasma deben utilizarse durante las primeras 8 horas después de la separación. Como alternativa, las muestras deberían conservarse en viales herméticamente cerrados a 2-8 °C/35,6-46,4 °F durante un máximo de 48 horas o congelados a -20 °C/-4 °F si es para periodos más prolongados. Evite congelar y descongelar las muestras repetidamente. (Thomas: Labor und Diagnose; Directriz GP44-A4 del CLSI) No utilice muestras inactivadas térmicamente (56 °C/132,8 °F).

7 Procedimiento del ensayo

7.1 Preparativos antes de comenzar

Confirme que no se han formado cristales salinos en el concentrado. En caso de que haya ocurrido, caliente ligeramente el concentrado (a temperatura ambiente es suficiente) para disolver los cristales.

Diluya el tampón de lavado concentrado a 1:20 con agua destilada (por ejemplo, 50 ml con 950 ml).

Para preparar un tampón de muestra: agregue 10 ml de tampón de lavado a un frasco de reactivo bloqueante y mezcle bien.

Coloque las tiras de prueba en la orientación correcta (línea de referencia y codificación de color hacia arriba) en los pocillos de incubación utilizando pinzas (no toque las tiras de análisis con la mano). Guarde las tiras de análisis no utilizadas en la caja correspondiente, bien cerrada, dentro de una bolsa seca y a baja temperatura (2-8 °C/35,6-46,4 °F). Cargue el instrumento según las especificaciones del ***HELIA*® Automated Blot System**.

Notas importantes:

La prueba debe realizarse de forma totalmente automática con el ***HELIA*® Automated Blot System** de Aesku.Diagnostics. La prueba correspondiente se realiza con el programa: 401005 GRD IgA.

Se deberá utilizar el Certificado de análisis (CoA por sus siglas en inglés) específico de cada lote.

7.2 Pasos de la prueba manual

Notas importantes:

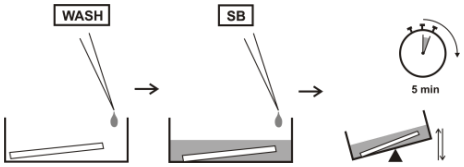
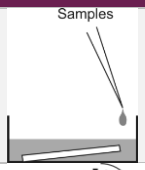
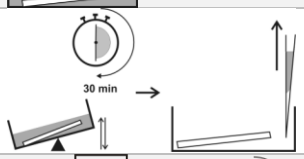
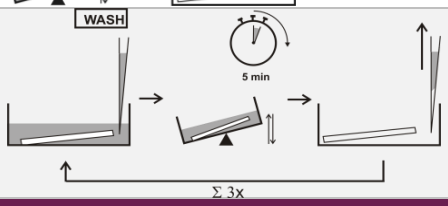
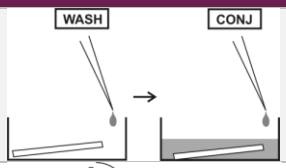
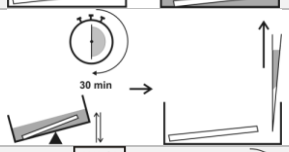
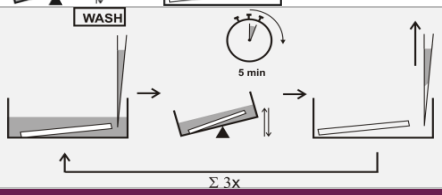
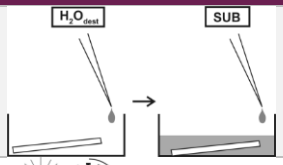
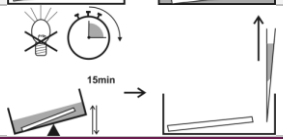
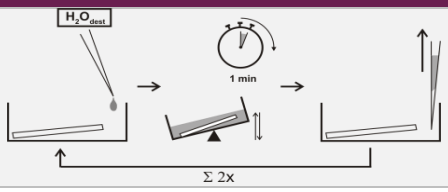
Para el procesamiento manual, siga el procedimiento de prueba que se indica a continuación. Asegúrese de que los dos componentes mencionados en el protocolo se añaden a la bandeja en los pasos 2, 6 y 9.

No deje que las tiras se sequen durante los pasos de incubación. No toque las tiras con los dedos, utilice pinzas.

Retire completamente las muestras diluidas después de la incubación de las tiras para evitar el arrastre.

Agite continuamente las tiras durante los pasos de incubación.

Vierta el tampón de muestra, el conjugado y el sustrato junto con el tampón de lavado en un lado de la bandeja de incubación. No permita que fluya sobre las tiras en el momento de la aplicación.

Paso	Descripción
1.	Asegúrese que todo esté listo antes de empezar.
2.	 Colocar las tiras en la bandeja de incubación con la orientación correcta (la línea de referencia y el código de colores hacia arriba). Toque las tiras únicamente con pinzas. Añada 1050 µl de tampón de lavado y 450 µl de tampón de muestra a la bandeja de incubación con las tiras. Moje las tiras completamente con la solución e incube durante 5 minutos mientras agita.
	Muestra
3.	 Pipetear 15 µl de muestra de suero/plasma en la bandeja de incubación con la tira y el tampón de muestra proporcionados.
4.	 Incubar durante 30 minutos a 20-32 °C / 68-89,6 °F con agitación. A continuación, retirar la muestra por completo.
5.	 Lavar 3 veces durante 5 minutos con 1,8 ml de solución de lavado cada vez, agitando. La solución de lavado se retira después de cada paso de lavado.
	Conjugado
6.	 Añadir 1050 µl de solución de lavado y 450 µl de conjugado a cada bandeja de incubación con tiras.
7.	 Incubar durante 30 minutos a 20-32 °C / 68-89,6 °F con agitación. Se retira el conjugado.
8.	 Lavar 3 veces durante 5 minutos con 1,8 ml de solución de lavado cada vez, agitando. La solución de lavado se retira después de cada paso de lavado.
	Sustrato
9.	 Pipetear 1050 µl de dH_2O y 450 µl de sustrato en cada pocillo.
10.	 Incubar durante 15 minutos a 20-32 °C / 68-89,6 °F agitando y protegiendo de la luz intensa. Retirar el sustrato.
	Parada
11.	 Añadir 2 ml de dH_2O e incubar durante 1 minuto con agitación. Retirar el dH_2O y repetir este paso una vez.
12.	Coloque las tiras dentro de la bandeja de incubación en un lector.

13.	En un intervalo de tiempo de 20 minutos, las tiras húmedas pueden evaluarse con un lector.

8 Evaluación cuantitativa

8.1 Análisis

La evaluación se realiza mediante el software integrado en el **HELIA® Automated Blot System o un lector**. Al mismo tiempo, el dispositivo comprueba cada tira con respecto a los criterios de validez.

8.1.1 Análisis manual utilizando BLOTrix Reader con el software correspondiente

El análisis de las tiras se puede realizar manualmente utilizando el software BLOTrix system versión 4.2 o superior. Consulte las instrucciones de uso de BLOTrix system para obtener orientación detallada.

Notas importantes para la interpretación manual:

- No se recomienda la interpretación visual de los resultados de la prueba.
- Los resultados de la prueba pueden considerarse válidos si se cumplen los siguientes criterios:
  - Los controles funcionales son claramente visibles.
  - Los estándares 1 a 3 son visibles con intensidad creciente.
  - El control negativo muestra una señal menos intensa que el estándar 1.

Si no se cumplen estos criterios, la prueba se considera no válida y debe repetirse.

El análisis cuantitativo se basa en la comparación de las intensidades de color de los antígenos individuales con las de los estándares. El software BLOTrix system calcula las intensidades de la señal y realiza la evaluación en consecuencia.

8.1.2 Análisis automatizado con HELIA® Automated Blot System

Cuando se utiliza el **HELIA® Automated Blot System**, la evaluación se lleva a cabo de forma totalmente automática. El software integrado en el sistema determina el resultado en concentración arbitraria de IgA (U/ml).

Características principales del análisis **HELIA® Automated Blot System**:

- El software comprueba automáticamente cada tira para verificar que cumple los criterios de validez.
- Las intensidades de señal (valores de barra) de las líneas de prueba se comparan con una curva estándar creada al trazar los valores de gris de los estándares frente a sus concentraciones conocidas en U/ml.
- La evaluación se basa en un modelo de ajuste de curva logística de 4 parámetros (4PL).
- Se calcula y se muestra la concentración resultante en U/ml para cada antígeno.

8.2 Interpretacón de los resultao

8.2.1 Interpretación de los resultados de IgA total

Results	IgA concentration arbitrary (U/ml)
Deficiencia de IgA	< 18 U/ml
Nivel normal de IgA	≥ 18 U/ml

8.2.2 Interpretación de los resultados de los marcadores GRD

Resultados	Concentración de IgA en unidades arbitrarias (U/ml)
Negativo	< 12 U/ml
Equívoco/Dudoso	≥ 12 < 18 U/ml
Positivo debil	≥ 18 < 30 U/ml
Positivo	≥ 30 < 200 U/ml
Positivo alto	≥ 200 U/ml

8.3 Notas sobre validez y calidad

Si los valores de los controles no cumplen los criterios de validación predefinidos, la prueba se considera inválida y debe repetirse. En los casos en que se obtengan resultados equívocos o dudosos, se recomienda repetir la prueba con una nueva muestra para garantizar su fiabilidad.

Compruebe las fuentes comunes de error:

- Fechas de caducidad y almacenamiento de los reactivos.
- Calibración y funcionamiento de las pipetas y los equipos.
- Precisión de los tiempos y temperaturas de incubación.

Si se producen resultados inusuales o problemas de validación que no se deban a un error del usuario, póngase en contacto con el fabricante o el proveedor del kit.

Los laboratorios clínicos deben llevar a cabo procedimientos internos de control de calidad utilizando sueros de control adecuados y seguir las normas nacionales de laboratorio.

9 Datos técnicos

Material de muestra:	suero / plasma
Volumen de muestra:	15 µl de suero / plasma
Tiempo total de incubación:	117 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F
Intervalo de medición:	0-300 U/ml
LoB:	Consulte el capítulo 10.1
LoD:	Consulte el capítulo 10.1
Almacenamiento:	a 2-8 °C/35,6-46,4 °F; uso solo con viales originales
Número de determinaciones:	24 análisis

10 Datos de funcionamiento

10.1 Sensibilidad analítica

El límite de blanco (inglés: Limit of Blank = LoB), que corresponde al límite de detección del sistema de medición, se determinó mediante la repetición del reactivo bloqueante 20 veces en cada antígeno. El siguiente valor se determina para todos los antígenos: 0,20 U/ml.

El límite de detección (inglés: Limit of Detection = LoD) corresponde al límite de detección del sistema de medición. El LoD se establece en 0,58 U/ml para todos los antígenos.

10.2 Intervalo normal

Se analizó el suero de donantes sanos mediante ***AESKUBLOTS*® Gluten Related Disorders IgA** y se obtuvo la siguiente distribución:

Antígeno	Número de muestras	Valor medio [U/ml]	Mediana [U/ml]	Valor mínimo [U/ml]	Valor máximo [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 total	120	29,69	29,73	11,40	47,57

Recomendamos que cada laboratorio determine un valor de intervalo normal propio.

10.3 Precisión

La precisión de los resultados de prueba obtenidos con los ***AESKUBLOTS®* Gluten Related Disorders IgA** se investigó mediante la determinación de la precisión intra e interensayo y la variación entre lotes; para ello, se analizaron varias muestras con diferentes concentraciones.

Los valores medios de todas las muestras se calcularon y expresaron en U/ml. Para las muestras dentro del rango positivo, el coeficiente de variación (CV) también se especificó en forma de porcentaje. Para muestras dentro del rango negativo, se utiliza la indicación neg., que confirma los resultados negativos. La indicación neg. se introdujo debido a que los valores muy reducidos (con muestras negativas), incluso con diferencias pequeñas aumentadas artificialmente, no provocan desviaciones significativas.

Intraensayo

		Gliadina	DGP	tTG	tTG neo	TG3	mTG neo	mTG	Frazer's Fraction	IgA total
Muestra 1	Valor 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 %
Muestra 2	Valor 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 %
Muestra 3	Valor 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 %
Muestra 4	Valor 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 %
Muestra 5	Valor 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 %

Interensayo

		Gliadina	DGP	tTG	tTG neo	TG3	mTG neo	mTG	Frazer's Fraction	IgA total
Muestra 1	Valor 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 %
Muestra 2	Valor 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 %
Muestra 3	Valor 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 %
Muestra 4	Valor 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 %
Muestra 5	Valor 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 %

Variación entre lotes

		Gliadina	DGP	tTG	tTG neo	TG3	mTG neo	mTG	Frazer's Fraction	IgA total
Muestra 1	Valor 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 %
Muestra 2	Valor 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 %
Muestra 3	Valor 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 %
Muestra 4	Valor 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 %
Muestra 5	Valor 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 Comparación con la competencia

Puesto que había disponibles datos clínicos relativos a la dieta sin gluten para las muestras medidas y este factor es decisivo para la detección de anticuerpos específicos, las muestras se caracterizaron previamente con una prueba de referencia. Se supuso que las muestras evaluadas previamente como positivas mediante la prueba de referencia eran positivas y que las muestras evaluadas previamente como negativas eran negativas. Las muestras dudosas se consideraron negativas. En este método se supone que la prueba de referencia identifica correctamente las muestras, lo que quizá no necesariamente sea el caso. Se deberán realizar más estudios a este respecto.

10.4.1 DGP y tTG

Los antígenos de DGP y tTG se compararon con un análisis de inmunotransferencia LINE disponible comercialmente (prueba de referencia con la certificación de organismo notificado CE) para la determinación de anticuerpos específicos de la enfermedad celíaca.

Enfermedad	Medición de DGP	Medición de tTG
Enfermedad celíaca	11	23
Enfermedad de Crohn	31	31
Diabetes mellitus tipo 1	23	23
Colitis ulcerosa	22	22
Gastroenteritis	23	23
Intolerancia a la lactosa	17	17
Controles de salud	60	60

DGP		Prueba de referencia		
		Positivo	Negativo	Total
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	7	1	8
	Negativo	7	172	179
	Total	14	173	187

DGP	[%]	95 % CI
Sensibilidad	50,0	26,8 a 73,20
Especificidad	99,4	96,80 a 99,97
Concordancia total	95,7	91,8 a 97,8

En el colectivo evaluado, que se caracterizó previamente mediante la prueba de referencia, se determinó una sensibilidad del 50,0 % con una especificidad del 99,4 % en relación con el sistema de referencia. Los valores obtenidos se basan en la suposición de que la prueba de referencia permite la clasificación correcta de todas las pruebas. El antígeno de DGP tiene 2 variantes de péptido diferentes con casi toda probabilidad.

tTG		Prueba de referencia		
		Positivo	Positivo	Positivo
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	23	2	25
	Negativo	1	173	174
	Total	24	175	199

tTG	[%]	95 % CI
Sensibilidad	95,8	79,8 a 99,8
Especificidad	98,9	95,9 a 99,8
Concordancia total	98,5	95,7 a 99,5

En el colectivo evaluado, que se caracterizó previamente mediante la prueba de referencia, se determinó una sensibilidad del 95,8 % con una especificidad del 98,9 % en relación con el sistema de referencia. Los valores obtenidos se basan en la suposición de que la prueba de referencia permite la clasificación correcta de todas las pruebas.

10.4.2 Gliadina y tTG neo

Los antígenos gliadina y tTG neo se compararon con inmunoensayos ELISA (productos con la certificación de organismo notificado CE de Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG) disponibles comercialmente para la determinación de los anticuerpos frente a gliadina y tTG neo.

Enfermedad	Medición de gliadina	Medición de tTG neo
Enfermedad celíaca	10	40
Enfermedad de Crohn	31	31
Diabetes mellitus tipo 1	23	23
Colitis ulcerosa	24	24
Gastroenteritis	23	23
Intolerancia a la lactosa	17	17
Controles de salud	100	100

Gliadina		Prueba de referencia		
		Positivo	Negativo	Total
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	11	6	17
	Negativo	3	208	211
	Total	14	214	228

Gliadina	[%]	95 % CI
Sensibilidad	78,6	52,4 a 92,4
Especificidad	97,2	94,0 a 98,7
Concordancia total	96,1	92,7 a 97,9

En el colectivo evaluado, se determinó una sensibilidad del 78,6 % con una especificidad del 97,2 % en relación con el sistema de referencia. Los valores determinados se basan en la suposición de que la prueba de referencia permite la clasificación correcta de todas las pruebas.

tTG neo		Prueba de referencia		
		Positivo	Negativo	Total
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	27	0	27
	Negativo	15	216	231
	Total	42	216	258

tTG neo	[%]	95 % CI
Sensibilidad	64,3	49,2 a 77,0
Especificidad	100	93,3 a 100,0
Concordancia total	94,2	90,6 a 96,4

En el colectivo evaluado se determinó una sensibilidad del 64,3 % con una especificidad del 100,0 % en relación con el sistema de referencia. Los valores obtenidos se basan en el supuesto de que la prueba de referencia permite la clasificación correcta de todas las pruebas.

10.4.3 TG3

El antígeno TG3 se comparó con una prueba ELISA disponible comercialmente para la determinación de anticuerpos IgA frente a TG3. Para este fin, se caracterizaron previamente 27 muestras de pacientes con dermatitis herpetiforme mediante una prueba de referencia con la certificación de organismo notificado y compararon con ***AESKUBLOTS*® Gluten Related Disorders IgA** (los resultados dudosos se consideraron negativos).

TG3		Prueba de referencia		
		Positivo	Negativo	Total
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	8	1	9
	Negativo	3	15	18
	Total	11	16	27

TG3	[%]	95 % CI
Sensibilidad	72,7	43,4 a 90,3
Especificidad	93,8	71,7 a 99,7
Concordancia total	85,2	67,5 a 94,1

En el colectivo evaluado, se determinó una sensibilidad del 72,7 % y una especificidad del 93,8 % en relación con el sistema de referencia. Los valores determinados se basan en la suposición de que la prueba de referencia permite la clasificación correcta de todas las pruebas.

10.4.4 mTG y mTG neo

En la actualidad, para los antígenos mTG y mTG neo no existen productos comparativos en el mercado. Sin embargo, fue posible realizar una prueba comparativa mediante los kits ELISA RUO (empresa Aesku.Diagnostics GmbH & Co. KG) para la determinación de los anticuerpos frente a mTG y mTG neo.

Enfermedad	Medición de mTG neo	Medición de mTG
Enfermedad celíaca	33	102
Enfermedad de Crohn	31	31
Diabetes mellitus tipo 1	23	23
Colitis ulcerosa	24	24
Gastroenteritis	23	23
Intolerancia a la lactosa	17	17
Controles de salud	100	100

mTG neo		Prueba de referencia		
		Positivo	Negativo	Total
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	41	1	42
	Negativo	9	200	209
	Total	50	201	251

mTG neo	[%]	95 % CI
Sensibilidad	82,0	69,2 a 90,2
Especificidad	99,5	97,2 a 99,9
Concordancia total	96,0	92,8 a 97,8

En el colectivo evaluado, se determinó una sensibilidad del 82,0 % con una especificidad del 99,5 % en relación con el sistema de referencia. Los valores determinados se basan en la suposición de que la prueba de referencia permite la clasificación correcta de todas las pruebas.

mTG		Prueba de referencia		
		Positivo	Negativo	Total
AESKUBLOTS® Gluten Related Disorders IgA	Positivo	0	3	3
	Negativo	1	316	317
	Total	1	319	320

mTG	[%]	95 % CI
Sensibilidad	0,0	0,0 a 94,87
Especificidad	99,1	97,27 a 99,74
Concordancia total	98,8	96,8 a 99,5

Los estudios anteriores han demostrado que los anticuerpos frente a mTG son muy raros. Esto se pudo confirmar en el caso de ***AESKUBLOTS*® Gluten Related Disorders IgA**. Se determinó una especificidad del 99,1 % en relación con el sistema de referencia. Los valores determinados se basan en la suposición de que la prueba de referencia permite la clasificación correcta de todas las pruebas.

10.5 Linealidad

Para los sueros seleccionados, en este ensayo se pudo determinar una relación lineal entre la dilución y la concentración de anticuerpos. En todas las muestras enumeradas se ha registrado un R^2 >0,95. Sin embargo, debido a la heterogeneidad de los anticuerpos humanos, no se puede excluir que un suero específico demuestre un comportamiento no lineal.

Antigen	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 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 Calibración

El sistema de medición cuantitativa se calibra en unidades provisionales debido a la falta de un estándar de referencia internacional. Los resultados se expresan en U/ml.

11 Eliminación del producto

Respetar los requisitos de la normativa correspondiente.

12 Nota para el usuario (Unión Europea)

Cualquier incidente grave producido en relación con el dispositivo se deberá comunicar al fabricante y la autoridad competente del Estado miembro en el que resida el usuario o el paciente.

13 Bibliografía

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 Símbolos reglamentario

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	