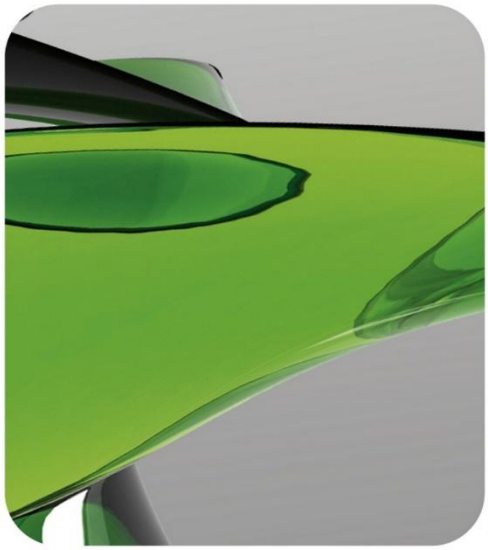
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS





AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

***AESKULISA®* tTg-A New Generation**

Ref 3503



Instruction Manual

Table of Contents

1 Zweckbestimmung 1
2 Klinische Anwendung und Testprinzip 1
3 KIT Bestandteile 2
4 Lagerung und Haltbarkeit 2
5 Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen 3
6 Probenentnahme, Vorbereitung und Lagerung 4
7 Testdurchführung 4
8 Quantitative und qualitative Auswertung 7
9 Technische Daten 8
10 Testdaten/Testcharakteristik 8
11 Literatur 11
12 Regulatorische Symbole 12

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

1 Zweckbestimmung

Der ***AESKULISA®*** **tTg-A New Generation** ist ein Festphasen-Enzymimmunoassay zur quantitativen und qualitativen Bestimmung von IgA Antikörpern gegen Neo-Epitope von humaner rekombinanter Gewebstransglutaminase (tTG) in humanem Serum. Durch den Einsatz von humaner rekombinanter Gewebstransglutaminase quervernetzt mit Gliadin-spezifischen Peptiden werden Neo-Epitope von tTg bereitgestellt, hiermit wird eine signifikante Steigerung der Sensitivität und Spezifität des Testes erzielt.
Der Test dient der Diagnosestellung und Überwachung der Zöliakie (Gluten-sensitive Enteropathie).

2 Klinische Anwendung und Testprinzip

Die Gluten-sensitive Enteropathie (Zöliakie) ist durch eine Atrophie der Villi des Dünndarms charakterisiert, es kommt zur einer Abflachung der Mukosa. Ursache für die Erkrankung ist eine pathologische Intoleranz gegen Gliadin. Gliadin ist die alkohollösliche Fraktion des Glutens, einem Bestandteil des Weizens, Roggens und der Gerste.
Die Erkrankung wird durch die Aufnahme von Gluten induziert. Als Therapie muss lebenslang eine Gluten-freie Diät eingehalten werden, da die Symptome bei erneuter Gluten-Aufnahme stets wieder auftreten. Die Zöliakie ist HLA assoziiert, >95% der Patienten haben DQ2 kodiert durch DQA1*0501 and DQB1*0201. Die Manifestation der Krankheit erfolgt in allen Altersstufen, gehäuft jedoch im frühen Kindesalter, z.T. bereits bei Neugeborenen. Die Inzidenz liegt bei 1/ 4000 bis zu 1/ 300 in Europa.
Die Diagnose erfolgt letztlich durch Nachweis der typischen flachen Mukosa mittels Dünndarm-Biopsie, begleitet durch serologische Marker. Antikörper gegen Gliadin und gegen Endomysium (Endomysial Antikörper; EMA) sind für die Zöliakie von hoher Signifikanz. Sie werden im indirekten Immunfluoeszenz-Test (IFT) nachgewiesen, dieser Test ist jedoch auf die Bestimmung von Antikörpern der Subklasse IgA beschränkt. Die Identifikation von tTG als Hauptzielantigen der EMA, ermöglichte eine einfachere und zuverlässige Diagnostik der Zöliakie. tTG ist ein Enzym das unter anderem bei der Zellschädigung freigesetzt wird und an der Gewebereparatur beteiligt ist.
Anti-tTG Antikörper zeigen eine höhere Sensitivität und Spezifität für Zöliakie als anti-Gliadin Antikörper und korrelieren stark mit der Aktivität der Krankheit. Sie sind daher besonders für die Überwachung der Diät geeignet. Durch die Quervernetzung von tTg mit Gliadin-spezifischen Peptiden wird die Bildung von Neo-Epitopen in der tTg induziert. Da diese Neo-Epitope den physiologischen Epitopen strukturell ähnlicher sind als bisher verwendete Antigene, erzielen die AESKULISA tTg Teste dieser neuen Generation deutlich bessere Sensitivitäten und Spezifitäten. Diese Epitope zeigen keine Kreuzreaktionen zu Gliadin.
Die Bestimmung von anti-tTG Antikörpern der Subklasse IgG ist vor allem für die 2%-5% der Patienten von großer Bedeutung, die einen IgA-Mangel haben und daher durch die Bestimmung von IgA nicht erfasst werden können. Neuere Studien mit anti-tTg Antikörpern haben eine Vielzahl subklinischer Zöliakie-Fälle aufdecken können. Dies unterstützt die Theorie, dass die Mehrheit der Zöliakie-Fälle, insbesondere im Erwachsenenalter unentdeckt und daher auch unbehandelt bleibt (Eisberg-Modell).

Testprinzip
Die 1:101 verdünnten Serumproben werden in den Kavitäten, welche mit dem spezifischen Antigen beschichtet sind, inkubiert. Hierbei binden spezifische Antikörper aus dem Patientenserum, wenn vorhanden, an das Antigen auf der Platte; ungebundene Serumkomponenten werden im folgenden Waschschritt weggewaschen. Anschließend werden anti-Human Immunoglobuline, die mit Meerrettich-Peroxidase markiert sind (Konjugat), zugegeben. Während einer Inkubation binden diese an den zuvor gebildeten Antigen-Antikörper-Komplex, nicht gebundene Immunglobuline werden im folgenden Waschschritt entfernt. Der Nachweis gebundener Antikörper erfolgt mit einer enzymatischen Farbreaktion (blau) des Substrates, die mit verdünnter Säure abgestoppt wird (Farb-umschlag nach gelb). Die Intensität der Farbentwicklung des Chromogens ist abhängig von der an den Antigen-Antikörper-Komplex gebundenen Konjugatmenge und somit direkt proportional zur Antikörperkonzentration im Serum.

3 KIT Bestandteile

Vor Gebrauch verdünnen				
Kitbestandteil	Menge	Farbe des Verschluss	Farbe der Lösung	Beschreibung / Inhalt
Probenpuffer 5x	1 x 20ml	Weiß	Gelb	5 fach konzentiert Tris, NaCl, BSA, Natriumazid < 0,1% (Konservierungsstoff)
Waschpuffer 50x	1 x 20ml	Weiß	Grün	50 fach konzentriert Tris, NaCl, Tween 20, Natriumazid < 0,1% (Konservierungsstoff)
Gebrauchsfertig:				
Kitbestandteil	Menge	Farbe des Verschluss	Farbe der Lösung	Beschreibung / Inhalt
Negativ Kontrolle	1 x 1,5ml	Grün	Farblos	Kontroll Material (verdünnt), BSA, Natriumazid < 0,1% (Konservierungsstoff)
Positiv Kontrolle	1 x 1,5ml	Rot	Gelb	Kontroll Material (verdünnt), BSA, Natriumazid < 0,1%
Cut-off Kalibrator	1 x 1,5ml	Blau	Gelb	Kalibrator Material (verdünnt), BSA, Natriumazid < 0,1% (Konservierungsstoff)
Kalibratoren	6 x 1,5ml	Weiß	Gelb*	Konzentration der Kalibratoren: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. Kalibrator Material (verdünnt), BSA, Natriumazid < 0,1% (Konservierungsstoff)
Konjugat, IgA	1 x 15ml	Rot	Rot	Immunoglobuline markiert mit Meerrettichperoxidase, BSA
TMB Substrat	1 x 15ml	Schwarz	Farblos	Stabilisiertes TMB/H2O2
Stop Lösung	1 x 15ml	Weiß	Farblos	1M Salzsäure
Mikrowell-Streifen	12 x 8 well strips	N/A	N/A	brechbar. Beschichtung siehe Punkt 1.
*Farbintensität mit Konzentration steigend				
Erforderliche Materialien, nicht im Kit enthalten:				
Mikrotiterplatten-Photometer mit optischem Filter für 450 nm, optional mit Referenzwellenlänge von 620nm (600-690 nm). Glaswaren (Zylinder 100-1000ml), Röhrchen für Verdünnungen, Vortexer, Mikropipetten (10, 100, 200, 500, 1000 µl) oder einstellbare Multipipette. Wascheinheit für Mikrotiterplatten (300µl Multipipette oder Mehrkanalpipette oder automatisches Waschsystem), Filterpapier. Unsere Tests wurden für die Verwendung mit gereinigtem Wasser (purified water) nach der Definition der U.S. Pharmakopöe (USP 26 - NF 21) und der Europäischen Pharmakopöe entwickelt (Eur. Ph. 4te Ed.).				

4 Lagerung und Haltbarkeit

Die Lagerung der Kitreagenzien und der Mikrotiterplatte soll bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F in den Originalflaschen erfolgen. Verdünnte Lösungen sind bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F einen Monat haltbar. Die auf der Verpackung und den Etiketten der einzelnen Komponenten angegebenen Verfallsdaten sind zu beachten. Verfallene Kitbestandteile nicht benutzen! Eine starke Lichteinwirkung auf die Substratlösung TMB ist zu vermeiden. Mikrotiterplatten stets in der Verpackungsfolie mit Trockenbeutel verschlossen aufbewahren.

5 Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

5.1 Gesundheitsrisiko

Dieses Produkt darf ausschliesslich zur IN VITRO DIAGNOSTIK verwendet werden.

Die Anwendung muss durch Personal erfolgen, das speziell in der Verwendung von in vitro-Diagnostika unterrichtet und ausgebildet wurde. Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien sind bei vorschriftmäßigem Gebrauch weder als toxisch noch als gesundheitsgefährlich einzustufen, dennoch sollte zur Gewährleistung der maximalen Sicherheit des Anwenders folgendes eingehalten werden:

Empfehlungen und Vorsichtsmaßnahmen

Da einzelne Komponenten des Kits potentiell gefährdende Reagenzien enthalten, können diese eine Reizung der Augen und der Haut hervorrufen.

ACHTUNG: Kalibratoren, Kontrollen und Puffer enthalten Natriumazid (NaN_3) als Konservierungsstoff. NaN_3 kann toxisch wirken, sofern es eingenommen oder über die Haut oder Augen adsorbiert wird. NaN_3 kann mit Blei oder Kupferrohren hochexplosive Metallazide bilden. Zur Vermeidung von Azid-Anreicherungen sollte bei der Entsorgung dieser Lösungen bitte mit einer großen Menge Wasser nachgespült werden. Bitte die Vorgaben örtlicher/ nationaler Vorschriften zur Dekontamination beachten.

Während des Arbeitens mit dem Kit nicht essen, trinken oder rauchen. Nicht mit dem Mund pipettieren, Einmal-Handschuhe tragen.

Die in diesem Produkt enthaltenen Reagenzien biologischen Ursprungs (Kontrollen und Kalibratoren) erwiesen sich bei der Prüfung auf Hepatitis B Oberflächen-Antigen (HbsAg), Hepatitis C und HIV 1 und 2 als negativ. Dennoch ist bei Produkten biologischen Ursprungs nie mit letzter Sicherheit auszuschließen, dass die genannten, andere oder ggf. noch nicht bekannte oder diagnostizierte Krankheitserreger enthalten sind. Daher sind Kontrollen, Kalibratoren sowie Patientenseren als potentiell infektiös einzustufen und entsprechend der nationalen Rechtslage zu handhaben. Das Produkt enthält Bestandteile tierischen Ursprungs wie in der Tabelle der Bestandteile angegeben: Beim Umgang sind entsprechende nationale Richtlinien zu beachten.

5.2 Allgemeine Hinweise

Sollten Produktinformationen, einschliesslich Labeling falsch oder inkorrekt sein, kontaktieren sie bitte den Hersteller oder den Lieferanten des Kits.

Einzelne Kontrollen, Kalibratoren und Konjugate oder Mikrotiterplatten verschiedener Chargen sollten nicht ausgetauscht werden, da dies zu Verfälschungen der Messergebnisse führen kann.

Alle Kit-Komponenten vor Testbeginn auf Raumtemperatur (20-32 °C/68-89,6 °F) bringen und gut durchmischen. Das vorgeschriebene Protokoll zur Durchführung des Tests ist unbedingt einzuhalten.

Inkubation:Für eine Testabarbeitung mit Automaten empfehlen wir eine Temperatur von 30 °C/86 °F.

Setzen Sie die einzelnen Kit-Komponenten niemals höheren Temperaturen als 37 °C/98,6 °F aus.

Die Substrat-Lösung immer mit verkaufsneuen Pipettenspitzen pipettieren, um Kontaminationen zu vermeiden. Intensiven Lichtkontakt der Substratlösung vermeiden. Konjugat-Lösung niemals mit Pipettenspitzen pipettieren, welche mit anderen Reagenzien kontaminiert sind.

Eine endgültige klinische Diagnose sollte nicht alleine auf den Ergebnissen des durchgeführten Tests erfolgen, sondern vom Arzt unter Berücksichtigung aller klinischen Befunde und Laborbefunde erstellt werden. Die Diagnose sollte unbedingt mit verschiedenen diagnostischen Methoden bestätigt werden.

6 Probenentnahme, Vorbereitung und Lagerung

Die Verwendung frischer Serumproben wird empfohlen. Die Blutentnahme hat nach der nationalen Rechtslage zu erfolgen.Ikterische, lipämische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Serumproben nicht verwenden. Bei trüben Proben die Partikel niedrig abzentrifugieren (<1000 x g). Blutproben in saubere, trockene und leere Röhrchen aufnehmen.

Nach der Gewinnung sollten Serenproben innerhalb von 8 h verwendet werden, bzw. verschlossen für 48 h bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F aufbewahrt werden. Ist eine längere Lagerung beabsichtig sollten die Proben -20 °C/-4 °F tiefgefroren werden.

7 Testdurchführung

7.1 Vorbereitung

Verdünnung konzentrierter Reagenzien:

Konzentrierten Probenpuffer 1:5 mit destilliertem Wasser verdünnen (z.B. 20 ml plus 80 ml).

Konzentrierten Waschpuffer 1:50 mit destilliertem Wasser verdünnen (z.B. 20 ml plus 980 ml).

Um Fehler zu vermeiden empfehlen wir die Deckel der Kalibratoren und Kontrollen zu kennzeichnen.

Verdünnung der Patientenproben:

Serumproben 1:101 mit verdünntem Probenpuffer (1x) verdünnen und mischen, z.B. 1000 µl Probenpuffer + 10 µl Serum.

Waschen:

Es werden 20 ml verdünnten Waschpuffers (1x) pro 8 Kavitäten oder 200 ml pro 96 Kavitäten benötigt z.B. 4 ml Konzentrat plus 196 ml destilliertes Wasser.

Automatisiertes Waschen:

Für die Inbetriebnahme des Instrumentes und das Totvolumen sind zusätzliche Waschpuffermengen zu berücksichtigen.

Manuelles Waschen:

Flüssigkeit sorgfältig durch Ausklopfen der Platte auf Filterpapier entfernen. 300 µl verdünnten Waschpuffer in jede Kavität pipettieren, 20 Sekunden warten. Den Vorgang noch zweimal wiederholen.

Mikrotiterplatte:

Unbenutzte Kavitäten entfernen und fest verschlossen in der Verpackungsfolie mit Trockenbeutel kühl lagern (2-8 °C/35,6-46,4 °F).

7.2 Pipettierschema

Wir empfehlen, die Kalibratoren, Kontrollen und Proben wie folgt zu pipettieren:

Zur *quantitativen* Auswertung

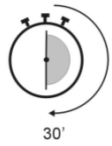
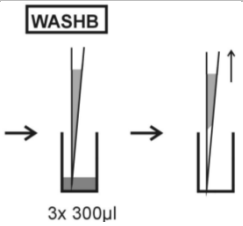
	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1	
B	Cal A	Cal E	P1	
C	Cal B	Cal F	P2	
D	Cal B	Cal F	P2	
E	Cal C	PC	P3	
F	Cal C	PC	P3	
G	Cal D	NC	…	
H	Cal D	NC	…	

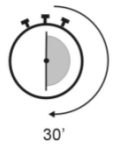
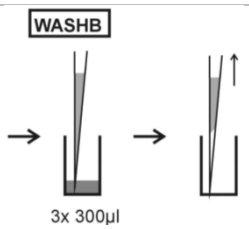
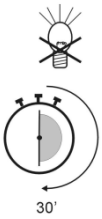
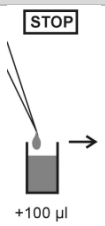
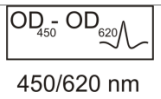
Zur *qualitativen* Auswertung

	1	2	3	4...
A	NC	P2		
B	NC	P2		
C	CC	P3		
D	CC	P3		
E	PC	…		
F	PC	…		
G	P1	…		
H	P1	…		

CalA: Kalibrator A
CalB: Kalibrator B
CalC: Kalibrator C
CalD: Kalibrator D
CalE: Kalibrator E
CalF: Kalibrator F
PC: positiv-Controle
NC: negativ-Controle
CC: Cut-off Kalibrator
P1: Patient 1
P2: Patient 2
P3: Patient 3

7.3 Arbeitsschritte

Schritt	*Beschreibung*
1.	Stellen sie sicher das die Vorbereitungen aus Kapitel 7.1 vor Beginn durchgeführt worden sind
2.	Verwenden sie die folgenden Schritte entsprechend der beabsichtigten quantitative / qualitative Interpretation der Ergebnisse
	Kalibratoren, Kontrollen & Proben
3.	 Pipettieren sie jeweils 100µl in die vorgesehenen Kavitäten entsprechend Kapitel 7.2: a. Kalibratoren (CAL.A to CAL.F) zur QUANTITATIVEN oder b. Cut-Off Kalibrator (CC) zur QUALITATIVEN Interpretation Und 100µl von jedem der folgenden Bestandteile • Negativ Kontrolle (NC) und Positiv Kontrolle (PC) und • Verdünnte Patienten Proben (P1, P2,…)
4.	 30 Minuten bei 20-32 °C/68-89,6 °F inkubieren.
5.	 3 mal mit jeweils 300 µl 1:50 verdünntem Waschpuffer waschen.

	KONJUGAT	
6.		100 µl Enzymkonjugatlösung in jede Kavität geben.
7.		30 Minuten bei 20-32 °C/68-89,6 °F inkubieren.
8.		3 mal mit jeweils 300 µl 1:50 verdünntem Waschpuffer waschen.
	SUBSTRAT	
9.		100 µl TMB-Substratlösung in jede Kavität pipettieren.
10.		30 Minuten bei 20-32 °C/68-89,6 °F inkubieren, vor intensiver Lichteinstrahlung schützen.
	STOP	
11.		100 µl Stopplösung pro Kavität in der Reihenfolge der Substratzugabe pipettieren.
12.		Mindestens 5 Minuten inkubieren.
13.		Platte vorsichtig 5 Sekunden schütteln.
14.		Optische Dichte bei 450 nm innerhalb von 30 Minuten messen (empfehlenswert bei 450/620 nm).

8 Quantitative und qualitative Auswertung

Die **quantitativen Auswertung** erfolgt anhand einer Standardkurve, bei der die optische Dichte der Kalibratoren (y-Achse) gegen die Konzentration in U/ml (x-Achse) aufgetragen wird. Eine log/lin Auftragung und ein 4-Parameter-Fit wird zur Auswertung empfohlen. Anhand der Kurve wird aus der optischen Dichte der Probe die Antikörper-Konzentration in U/ml ermittelt.

Normalbereich	Grenzwertig	Positive Ergebnisse
< 12 U/ml	12 - 18 U/ml	>18 U/ml

Auswertungsbeispiel

Dieses Beispiel darf nicht zur Interpretation der Patientenresultate benutzt werden !

Kalibratoren IgA	OD 450/620 nm	CV % (Varianz)
0 U/ml	0.073	3,1
3 U/ml	0.179	2,3
10 U/ml	0.342	1,2
30 U/ml	0.662	0,1
100 U/ml	1.310	0,9
300 U/ml	2.263	0,3

Berechnungsbeispiel

Patient	Replikat (OD)	Mittelwert (OD)	Ergebnis (U/ml)
P 01	0,808/0,831	0.820	39,6
P 02	1,081/1,071	1.076	66,1

Proben die über dem höchsten Kalibratorwert liegen sollten als >Max berichtet werden. Sie sollten entsprechend verdünnt und neu bewertet werden. Proben niedriger als der Meßbereich sollten als <Min berichtet werden.
Chargen spezifische Daten entnehmen Sie bitte dem beiliegenden Kontrollzertifikat. Medizinische Laboratorien sollten In-house Qualitätskontrollen mit eigenen Kontrollen und/oder Poolseren nach nationalem Reglement durchführen.

Es wird empfohlen, daß sich jedes Labor seine eigenen Normalwerte, basierend auf eigener Technik, Kontrollen, Ausrüstung und Patientenpopulation erarbeitet.

Sollten die Werte der Kontrollen nicht die Validierungskriterien erfüllen, ist der Test ungültig und muss wiederholt werden.

Die folgenden Technischen Fakten sollten überprüft werden: Haltbarkeitsdaten der Reagenzien, Lagerbedingungen, Pipetten, verwendete Geräte, Photometer, Inkubationsbedingungen und Waschmethode.

Sollten die getesteten Proben ungewöhnliche Werte oder Abweichungen zeigen, oder werden die Validierungskriterien aus unerfindlichen Gründen nicht erfüllt kontaktieren sie bitte den Hersteller oder den Lieferanten des Kits.

Die **qualitative Auswertung** erfolgt anhand des Vergleichs der optischen Dichte der Patientenprobe mit der optischen Dichte des Cut-off Kalibrators. Liegt die optische Dichte der Patientenprobe im Bereich von +/-20% des Cut-off Kalibrators, so ist diese als grenzwertig zu bewerten. Bei einer höheren OD ist die Patientenprobe als positiv, bei einer niedrigeren OD als negativ einzustufen.

Negativ:		**OD patient**	**<**	**0,8 x OD cut-off**		
Grenzwertig:	**0,8 x**	**OD cut-off**	**≤**	**OD patient**	**≤**	**1,2 x OD cut-off**
Positiv:		**OD patient**	**>**	**1,2 x OD cut-off**		

9 Technische Daten

Probenmaterial:	Serum
Probenvolumen:	10 µl Serum für 1:101 Verdünnung mit 1x Probenpuffer
Gesamt-Inkubationszeit:	90 Minuten bei 20-32 °C/68-89,6 °F
Messbereich:	0-300 U/ml
Analytische Sensitivität:	1,0 U/ml
Lagerung:	bei 2-8 °C/35,6-46,4 °F in Originalflaschen.
Zahl der Bestimmungen:	96 Tests

10 Testdaten/Testcharakteristik

10.1 Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität des ***AESKULISA®* tTg-A New Generation** von 1,0 U/ml wurde durch 30 maliges Testen von Probenpuffer ermittelt.

10.2 Spezifität und Sensitivität

Die Mikrotiterplatten sind mit humaner rekombinanter Gewebstransglutaminase und Gliadin-spezifischen Peptiden beschichtet. Es wurden keine Kreuzreaktionen mit anderen Autoantigenen nachgewiesen. Um Kreuzreaktionen mit Gliadin zu prüfen, wurden 7 Gliadin-positive Seren getestet und reagierten nicht mit dem Assay, obwohl dies bei anderen Gliadin-positiven Seren anders sein kann.

Zur Bestimmung der Sensitivität und Spezifität wurden Seren von 165 Patienten mit Zöliakie (n=102) und verwandten Krankheiten (siehe unten stehende Tabelle) mit ***AESKULISA®*** und einem Vergleichsprodukt getestet. Die Ergebnisse sind in der unten stehenden Tabelle als Vergleich mit dem Vergleichsprodukt und anhand der Informationen zu den Erkrankungen dargestellt.

		Diagnose		
		Pos	Neg	Summe
AESKULISA® tTg-A	Pos	62	5	67
	Neg	2	96	98
	Summe	64	101	165

Übereinstimmung: 95,8 %
Sensitivität: 96,9 %
Spezifität: 95,0 %

		Vergleichsprodukt		
		Pos	Neg	Summe
AESKULISA® tTg-A	Pos	25	42	67
	Neg	2	96	98
	Summe	27	138	165

Rel. Übereinstimmung: 73,3 %
Rel. Sensitivität: 92,6 %
Rel. Spezifität: 69,6 %

Erkrankung	**# Getestet**	**# positiv AESKU**	**# positiv Vergleichsprodukt**
Zöliakie	64 / 64	62 (96.9)	21 (32.8)
Zöliakie (Gluten-freie Diät)	38 / 38	0 (0.0)	1 (2.6)
Kontrollgruppe anderer Erkrankungen (Gesamt)	70 / 210	5 (2.4)	5 (7.1)
Morbus Crohn	51 / 51	1 (2.0)	0 (0.0)
Morbus Crohn	0 / 58	0 (0.0)	n / d
Colitis ulcerosa	4 / 4	0 (0.0)	1 (25.0)
Colitis ulcerosa	0 / 2	0 (0.0)	n / d
Helminthiasis	2 / 2	2 (100.0)	2 (100.0)
Laktoseintoleranz	2 / 2	2 (100.0)	2 (100.0)
Gliadin-positive Seren	0 / 7	0 (0.0)	n / d
gesunde Spender	4 / 4	0 (0.0)	0 (0.0)
gesunde Spender	0 / 80	0 (0.0)	n / d

10.3 Linearität

Für ausgewählte Seren konnte ein linearer Zusammenhang zwischen Verdünnung und Antikörperkonzentration in diesem Test ermittelt werden. Aufgrund der Heterogenität humaner Antikörper ist jedoch nicht auszuschließen, dass einzelne Seren ein nichtlineares Verhalten zeigen.

Proben Nr.	Verdünnung	gemessene Konzentration (U/ml)	erwartete Konzentration (U/ml)	Wiederfindung (%)
1	1 / 100	76,5	71,0	107,7
	1 / 200	36,6	35,5	103,1
	1 / 400	17,2	17,8	96,8
	1 / 800	8,5	8,9	95,8
2	1 / 100	62,2	59,0	105,4
	1 / 200	29,7	29,5	100,7
	1 / 400	13,3	14,8	90,2
	1 / 800	7,0	7,4	94,9

10.4 Präzision

Zur Kontrolle der Assaypräzision wurde mit drei Seren in verschiedenen Bereichen der Standardkurve (n=18) die Intra- und Interassay-Varianz ermittelt. Der zulässige Bereich für den Variationskoeffizienten (CV) beträgt 10 %. (n=24 / 18)

Intraassay		
Proben Nr.	**Mittelwert (U/ml)**	**CV (%)**
1	13,8	7,0
2	56,7	5,2
3	166,5	5,5

Interassay		
Proben Nr.	**Mittelwert (U/ml)**	**CV (%)**
1	10,1	2,3
2	38,9	0,8
3	169,4	4,2

10.5 Kalibration

Das quantitative Meßsystem ist mangels eines internationalen Referenzstandards in vorläufigen Einheiten kalibriert. Die Ergebnisse werden in U/ml angegeben.

11 Literatur

1.Dietrich W, Ehnis T, Bauer M, Donner P, Volta U, Riecken EO, Schuppan D (1997).
Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease.
Nat Med 3: 797-801.

2.Dietrich W, Laag E, Schöpper H, Volta U, Ferguson A, Gillett H, Riecken EO, Schuppan D (1998).
Autoantibodies to tissue transglutaminase as predictors of celiac disease.
Gastroenterology 115: 1317-1321.

3.Mäki M, Collin P (1997).
Coeliac disease.
Lancet 349: 1755-1759.

4. Shan L, Molberg O, Parrot I, Hausch F, Filiz F, Gray GM, Sollid LM, Khosla C (2002).
Structural basis for gluten intolerance in Celiac Sprue.
Science 297: 2275-2279.

5.Logan RFA. (1992)
Problems and pitfalls in epidemiological studies of coeliac disease.
Dyn Nutr Res 2: 14–24.

6.**Green PH, Jabri B. (2003)**
Coeliac disease.
Lancet 362: 383-391.

7.**Not T, Horvath K, Hill ID, Partanen J, Hammed A, Magzzú G, Fasano (1998)**
Celiac disease in the USA: High prevalence of antiendomysium antibodies in healthy donors.
Scand J Gastroenterol. 33: 494-8.

8.**Wong RC, Wilson RJ, Steele RH, Radford-Smith G, Adelstein S (2002)**
A comparison of 13 guinea pig and human anti-tissue transglutaminase antibody ELISA kits.
J Clin Pathol. 55: 488-94.

9.**Schuppan (2000)**
Current concepts of celiac disease pathogenesis.
Gastroenterol. 119: 234-42.

10.**Osman AA, Richter T, Stern M, Conrad K, Henker J, Brandsch C, Zimmer KP, Mothes T. (2002)**
Production of recombinant human tissue transglutaminase using baculovirus expression system and its application for serological diagnosis of celiac disease.
Eur J Gastroenterol Hepatol 14:1217-23.

11.**Ciccocioppo R, Di Sabatino A, Ara C, Biagi F, Perilli M, Amicosante G, Cifone MG (2003)**
Gliadin and tissue transglutaminase complexes in normal and coeliac duodenal mucosa.
Clin Exp Immunol. 134: 516-24.

12 Regulatorische Symbole

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 96	- 96 determinazioni	- 96 tests
	- 96 tests	- 96 pruebas
	- 96 Bestimmungen	- 96 προσδιορισμοί
	- 96 Testes	
eIFU WWW.AESKU.COM	- Rispettare le istruzioni elettroniche per l'uso	- See electronical instructions for use
	- Voir les instructions d'utilisation électronique	- Siga las instrucciones electrónicas de uso
	- Elektronische Gebrauchsanweisung beachten	- Ακολουθήστε τις ηλεκτρονικές οδηγίες χρήσης
	- Seguir as instruções electrónicas de utilização	
	- 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	
CO-CAL	- Calibratore cut-off	- Cut off Calibrator
	- Etalon Seuil	- Calibrador de cut-off
	- Grenzwert Kalibrator	- Οριακός ορός Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador de cut-off	
CON +	- Controllo positivo	- Positive Control
	- Contrôle Positif	- Control Positivo
	- Positiv Kontrolle	- Θετικός ορός ελέγχου
	- Controlo positivo	
CON −	- Controllo negativo	- Negative Control
	- Contrôle Négatif	- Control Negativo
	- Negativ Kontrolle	- Αρνητικός ορός ελέγχου
	- Controlo negativo	
CAL	- Calibratore	- Calibrator
	- Etalon	- Calibrador
	- Kalibrator	- Αντιδραστήριο βαθμονόμησης
	- Calibrador	
CONJ	- Coniugato	- Conjugate
	- Conjugé	- Conjugado
	- Konjugat	- Σύζευγμα
	- Conjugado	
MP	- Micropiastra rivestita	- Coated microtiter plate
	- Microplaque sensibilisée	- Microplaca sensibilizada
	- Beschichtete Mikrotiterplatte	- Επικαλυμμένη μικροπλάκα
	- Microplaca revestida	
WASHB 50x	- Tampone di lavaggio	- Wash buffer
	- Tampon de Lavage	- Solución de lavado
	- Waschpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης
	- Solucão de lavagem	
SUB	- Tampone substrato	- Substrate buffer
	- Substrat	- Tampón sustrato
	- Substratpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα υποστρώματος
	- Substrato	
STOP	- Reagente bloccante	- Stop solution
	- Solution d'Arrêt	- Solución de parada
	- Stopreagenz	- Αντιδραστήριο διακοπής αντίδρασης
	- Solucão de paragem	
SB 5x	- Tampone campione	- Sample buffer
	- Tampon Echantillons	- Tampón Muestras
	- Probenpuffer	- Ρυθμιστικό διάλυμα δειγμάτων
	- Diluente de amostra	