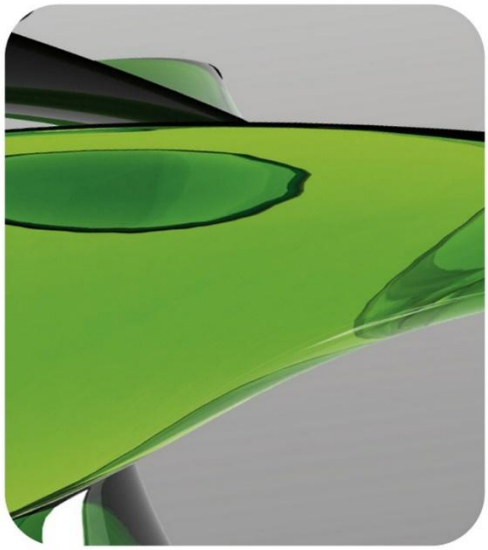
AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS





AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

***AESKULISA®* tTg-A New Generation**

Ref 3503



Manual de Instruções

Conteúdo

1 Utilização 1
2 Aplicações clínicas e princípio do ensaio 1
3 Componentes do Kit 2
4 Armazenamento e validade 2
5 Avisos e medidas de precaução 3
6 Recolha da amostra, manipulação e armazenamento 4
7 Procedimento do teste 4
8 Interpretação quantitativa e qualitativa 7
9 Dados Técnicos 8
10 Dados do teste / Características do teste 8
11 Bibliografia 11
12 Símbolos regulamentares 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 Utilização

***AESKULISA*® tTg-A New Generation** é um teste imunoenzimático em fase sólida para a determinação quantitativa e qualitativa de anticorpos IgA contra neo-epítopos de transglutaminase tecidual recombinante humana (tTg) no soro humano. Ao empregar transglutaminase tecidual recombinante humana em união cruzada com péptidos específicos de gliadina, são disponibilizados neo-epítopos de tTg, dessa forma obtém-se um aumento significativo da sensibilidade e especificidade do teste.
O ensaio serve para diagnóstico e monitoramento da doença celíaca (enteropatia por sensibilidade ao glúten).

2 Aplicações clínicas e princípio do ensaio

A enteropatia por sensibilidade ao glúten (doença celíaca) é caracterizada pela atrofia das velosidades do intestino delgado, provocando um achatamento da mucosa. Causa da doença é uma intolerância patológica à gliadina, que é a fracção do glúten que é solúvel em álcool, um componente do trigo, do centeio e da cevada.
A doença celíaca é induzida pela ingestão de glúten. Como terapia tem de ser mantida uma dieta com isenção de glúten durante toda a vida, já que os sintomas surgem sempre de novo, se se voltar a consumir glúten. A doença está associada a HLA, >95% dos doentes têm DQ2 codificado pelo DQA1*050 e DQB1*0201. A doença manifesta-se em qualquer idade, contudo com uma maior frequência na primeira infância, em parte já nos recém-nascidos. A incidência situa-se entre 1 / 4000 até 1 / 300 na Europa.

O diagnóstico realiza-se através da comprovação da mucosa achatada típica mediante biópsia do intestino delgado, acompanhada de marcadores serológicos. Os anticorpos contra gliadina e endomísio (anticorpos anti-endomísio; EMA) são muito significativos para a doença celíaca. Eles são comprovados pelo teste de imunofluorescência indirecta (IFT), contudo este teste está limitado à determinação de anticorpos da subclasse IgA. A identificação de tTG como antígeno principal dos EMA permitiu um diagnóstico mais sensível e fiável da doença celíaca. A tTG é uma enzima que, entre outros, é liberada em caso de danificação celular e participa na reparação tecidual.

Os anticorpos anti-tTG apresentam uma sensibilidade e especificidade mais elevadas para a doença celíaca do que os anticorpos anti-gliadina, correlacionando-se estreitamente com a actividade da doença. Por isso são especialmente adequados para o monitoramento da dieta. Pela união cruzada da tTg com os péptidos específicos de gliadina é induzida a formação de neo-epítopos na tTg. Dado que estes neo-epítopos são estruturalmente mais semelhantes aos antígenos fisiológicos do que antígenos até então usados, os testes AESKULISA tTg desta nova geração obtêm sensibilidades e especificidades nitidamente melhores. Estes epítopos não mostram reacções cruzadas com a gliadina.

A determinação de anticorpos anti-tTg da subclasse IgG é de grande importância para os 2% a 5% de doentes que sofrem de uma deficiência de IgA e que por esse motivo não podem ser recenseados pela determinação de IgA. Estudos mais recentes com anticorpos anti-tTg conseguiram detectar um elevado número de casos subclínicos de doença celíaca. Isto apoia a teoria de que a maioria dos casos de doença celíaca, nomeadamente em idade adulta, não são detectados, não sendo por isso tratados (modelo icebergue).

Princípio do teste
As provas de soro, diluídas a 1:101, são incubadas nos poços que estão revestidas com o antígeno específico. Neste passo os anticorpos específicos do soro do doente, se presentes, unem-se ao antígeno na placa; partes de soro não ligadas são eliminadas na etapa de lavagem seguinte. Depois são adicionadas imunoglobulinas anti-humanas, que se encontram marcadas com peroxidase de rábano (conjugado). Durante uma incubação elas unem-se ao complexo antígeno-anticorpo previamente formado, eas imunoglobulinas não ligadas são eliminadas na etapa de lavagem seguinte. A prova de anticorpos ligados efectua-se através de uma reacção colorimétrica (azul) enzimática do substrato, que é parada com ácido diluído (mudança da cor para amarelo). A alteração de cor do cromogénio depende da quantidade de conjugado ligado ao complexo antígeno-anticorpo, sendo dessa forma directamente proporcional à concentração de anticorpos no soro.

3 Componentes do Kit

DILUIR ANTES DE USAR				
Item	Quantidade	Cor da tampa	Cor da solução	Descrição/Conteúdo
Tampão de amostra (5x)	1 x 20ml	Branco	Amarelo	concentrado 5x Tris, cloreto de sódio (NaCl), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Tampão de lavagem (50x)	1 X 20ml	Branco	Verde	concentrado 50x Tris, NaCl, Tween 20, azido de sódio < 0.1% (conservante)
PRONTO A USAR				
Item	Quantidade	Cor da tampa	Cor da solução	Descrição/Conteúdo
Controlo negativo	1 x 1,5ml	Verde	Incolor	material de controlo (diluído), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Controlo positivo	1 x 1,5ml	Vermelho	Amarelo	material de controlo (diluído), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Calibrador Cut-off	1 x 1,5ml	Azul	Amarelo	material de calibrador (diluído), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Calibradores	6 x 1,5ml	Branco	Amarelo *	Concentração de cada calibrador: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. material de calibrador (diluído), albumina de soro bovino (BSA), azido de sódio < 0,1% (conservante)
Conjugado, IgA	1 x 15ml	Vermelho	Vermelho	Contém: Imunoglobulinas marcadas com peroxidase de rábano, albumina de soro bovino (BSA)
Substrato TMB	1 x 15ml	Preto	Incolor	Tetrametilbenzidina estabilizada e peróxido de hidrogénio (TMB/H_2O_2)
Solução de paragem	1 x 15ml	Branco	Incolor	Ácido clorídrico 1M
Microplaca	12x8 poços	N/A	N/A	Fraccionáveis. Revestimento ver ponto 1.

* Intensidade da cor aumenta com a concentração

MATERIAIS NECESSÁRIOS

Fotómetro para microplacas com filtro óptico para 450 nm, opcionalmente com filtro de referência opcional de 620 nm (600-690 nm). Material de vidro (cilindro 100-1000 ml), tubos de ensaio para as diluições. Agitador de tubos tipo Vortex, micropipetas (10,100, 200, 500, 1000 µl) ou multipipeta ajustável (100-1000µl). Aparelho de lavagem para microplacas (repetição 300 µl, pipeta multicanal ou sistema automatizado), papel de filtro. Os nossos testes foram concebidos para serem utilizados com água purificada segundo a definição da Farmacopeia dos Estados Unidos (USP 26 – NF 21) e da Farmacopeia Europeia (Eur.Ph. 4.ª ed.).

4 Armazenamento e validade

Todos os reagentes e a microplaca devem ser guardados nas suas embalagens originais a 2-8 °C/35,6-46,4 °F. Soluções diluídas são estáveis durante 1 mês a 2-8 °C/35,6-46,4 °F. Devem ser cumpridas as datas de validade indicadas na embalagem e nos rótulos dos diferentes componentes.

Não usar components do kit que estejam fora do prazo de validade Evite a exposição da solução de substrato TMB a luz intensa. Guarde as microplacas sempre fechadas dentro da sua película de embalagem, junto com o dessecante.

5 Avisos e medidas de precaução

5.1 Risco para a saúde

ESTE PRODUTO DEVE SER USADO EXCLUSIVAMENTE PARA DIAGNÓSTICO IN VITRO. A aplicação tem de ser realizada por pessoal que tenha sido especialmente instruído e formado no uso de métodos de diagnóstico in vitro. Apesar de este produto não ser considerado como particularmente tóxico ou perigoso em condições de utilização, ver o que se segue para máxima segurança:

Recomendações e medidas de precaução

Dado que alguns componentes do kit contêm reagentes potencialmente perigosos, estes podem causar uma irritação dos olhos e da pele.

ATENÇÃO: Calibradores, controlos e tampões contêm azida de sódio (NaN_3) como conservante. NaN_3 pode ter efeito tóxico, se for ingerido ou absorvido através da pele ou dos olhos. NaN_3 pode formar azidas metálicas altamente explosivas em contacto com canos de chumbo ou cobre. Para evitar concentrações de azida ao remover estas soluções deve-se passar com água em grande quantidade. É favor observar as prescrições locais/nacionais para descontaminação.

Ao trabalhar com o kit não comer, beber ou fumar.Não pipetar com a boca. Usar luvas descartáveis.

Os reagentes contidos neste produto, de origem biológico (controlos e calibradores), demonstraram ser negativos após análise de antígeno de superfície da hepatite B (HbsAg), hepatite C e HIV 1 e 2. Contudo, em produtos de origem biológico nunca se pode excluir com certeza definitiva a existência dos agentes patogénicos mencionados, outros ou de agentes eventualmente desconhecidos ou ainda não diagnosticados. Por isso os controlos, calibradores e soros dos doentes devem ser considerados trantTg-A New Generationissores potenciais de infecções e manuseados segundo as prescrições legais vigentes no seu país.

O kit contém material de origem animal conforme indicado no índice, manuseie segundo as prescrições legais vigentes no seu país.

5.2 Avisos gerais

Caso as informações sobre o produto, incluindo a rotulagem, tiverem erros ou estiverem incorrectas, contactar o fabricante ou o fornecedor do kit de teste.

Não misturar ou substituir controles, calibradores, conjugados ou microplacas de diferentes números de lote. Isto pode levar a variações nos resultados.

Todos os componentes do kit devem atingir a temperatura ambiente (20-32 °C/68-89,6 °F) e ser bem agitados antes do teste.

É impreterível seguir o protocolo prescrito para a realização do teste.

Incubação: Para a realização automática de testes recomendamos uma temperatura de 30 °C/86 °F.

Nunca exponha os componentes do kit a temperaturas superiores a 37 °C/98,6 °F.

Pipete a solução de substrato sempre com pontas de pipeta novas para evitar contaminações. Proteja a solução de substrato de luz intensa. Nunca pipete o a solução do conjugado com pontas de pipeta que estejam contaminadas com outros reagentes.

Um diagnóstico clínico definitivo não se deve basear somente nos resultados do teste realizado, mas deve ser elaborado pelo médico, tendo em conta todos os resultados clínicos e de laboratório. O diagnóstico deve ser impreterivelmente confirmado com diferentes métodos diagnósticos.

6 Recolha da amostra, manipulação e armazenamento

Recomenda-se a utilização de amostras de soro colhidas na altura. A extracção de sangue deve seguir os requerimentos de protocolo do seu país. Não utilize amostras de soro ictéricas, lipémicas, hemolizadas ou contaminadas por bactérias.

Em caso de amostras turvas, as partículas devem ser centrifugadas a baixa velocidade (<1000 x g).As amostras de sangue devem ser tomadas em tubos limpos, secos e vazios. Após a separação, as amostras de soro devem ser utilizadas nas primeiras 8 horas, guardadas num local bem fechado até 48 horas a 2-8 °C/35,6-46,4 °F, se for necessário um armazenamento mais prolongado, devem ser congeladas a -20 °C/-4 °F.

7 Procedimento do teste

7.1 Preparação

Diluição de reagentes concentrados:

Dilua o tampão de amostra concentrado 1:5 com água destilada (p.ex. 20 ml mais 80 ml)

Dilua o tampão de lavagem concentrado 1:50 com água destilada (p.ex. 20 ml mais 980 ml).

Para evitar erros, sugerimos a marcação das tampas dos vários calibradores.

Diluição das amostras dos doentes:

Dilua e misture as amostras de soro 1:101 com tampão de amostra (1x),

p.ex. 1000 µl tampão de amostra + 10 µl de soro.

Lavagem:

São necessários 20 ml de tampão de lavagem diluído (1x) para 8 poços ou 200 ml para 96 poços p.ex. 4 ml de concentrado mais 196 ml de água destilada.

Lavagem automatizada:

Para a colocação em serviço do instrumento e o volume morto deve, ser consideradas quantidades adicionais de tampão de lavagem.

Lavagem manual:

Remova cuidadosamente o líquido ao bater a placa sobre papel filtrante. Pipete 300 µl de tampão de lavagem diluído em cada poço, espere 20 segundos. Repita o procedimento mais duas vezes.

Microplacas:

Retire os poços não usados, armazenando-os a 2-8 °C/35,6-46,4 °F de forma bem fechada dentro da película da embalagem, junto com o dessecante.

7.2 Schéma de pipetage

Sugerimos a pipetagem de calibradores, controlos e amostras da seguinte forma:

para interpretação quantitativa

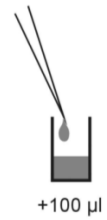
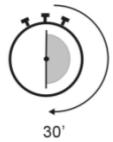
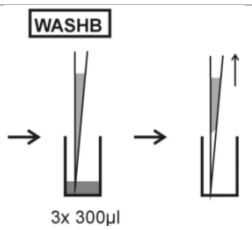
	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1	
B	Cal A	Cal E	P1	
C	Cal B	Cal F	P2	
D	Cal B	Cal F	P2	
E	Cal C	PC	P3	
F	Cal C	PC	P3	
G	Cal D	NC	…	
H	Cal D	NC	…	

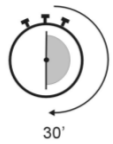
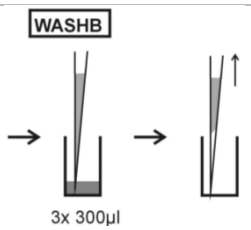
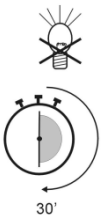
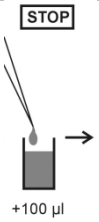
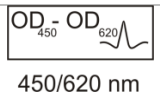
para interpretação qualitativa

	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: calibrator A
CalB: calibrator B
CalC: calibrator C
CalD: calibrator D
CalE: calibrator E
CalF: calibrator F
PC: positive control
NC: negative control
CC: cut-off calibrator
P1: patient 1
P2: patient 2
P3: patient 3

7.3 Passos de teste

Passo	*Descrição*
1.	Verifique se as preparações do passo 7.1 acima foram realizadas antes da pipetagem.
2.	Utilize os passos que se seguem de acordo com os resultados de interpretação quantitativa/qualitativa pretendidos:
	CONTROLOS E AMOSTRAS
3.	 Pipete para os poços conforme descrito no ponto 7.2 acima, 100 µl de um dos seguintes: a. Calibradores (CAL.A a CAL.F) para interpretação *QUANTITATIVA* ou b. Calibrado Cut-off (CC) para interpretação *QUALITATIVA* e 100 µl de cada um dos seguintes: • Controlo negativo (NC) e Controlo positivo (PC) e • Soro diluído dos pacientes (P1, P2...)
4.	 Incube durante 30 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F.
5.	 Lave 3 vezes com 300 µl de tampão de lavagem 1:50 diluído.

	CONJUGAR	
6.		Pipete 100 µl de conjugado em cada poço.
7.		Incube durante 30 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F.
8.		Lave 3 vezes com 300 µl de tampão de lavagem 1:50 diluído.
	SUBSTRATO	
9.		Pipete 100 µl de substrato TMB em cada poço.
10.		Incube durante 30 minutos a 20-32 °C/68-89,6 °F, protegida de luz intensa.
	PARAGEM	
11.		Pipete 100 µl da solução de paragem dentro de cada poço, na metTg-A New Generationa sequência da pipetagem do substrato.
12.		Incube durante 5 minutos, no mínimo.
13.		Agite cuidadosamente a placa durante 5 segundos.
14.		Leia a densidade óptica a 450 nm dentro de 30 minutos (recomendável a 450/620 nm).

8 Interpretação quantitativa e qualitativa

A **interpretação quantitativa** realiza-se com base numa curva padrão, em que a densidade óptica dos calibradores (eixo y) é traçada contra a concentração em U/ml (eixo x). É recomendada uma escala log/lin e um ajuste de 4 parâmetros para a interpretação. Com base na curva é determinada a concentração de anticorpos em U/ml a partir da densidade óptica da amostra.

Gama Normal	Duvidosos	Resultados positivos
< 12 U/ml	12 - 18 U/ml	>18 U/ml

Exemplo de interpretação

Este exemplo NÃO pode ser usado para interpretar os resultados dos pacientes

Calibradores IgA	*DO 450/620 nm*	*CV % (Variância)*
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

Exemplo de cálculo

Paciente	Replicado (OD)	Valor médio (OD)	Resultado (U/ml)
P 01	0,808/0,831	0,820	39,6
P 02	1,081/1,071	1,076	66,1

As amostras acima da gama do calibrador mais elevado devem ser referidas como >Max. Devem ser diluídas conforme necessário voltar a realizar o ensaio. As amostras abaixo da gama do calibrador devem ser referidas como < Min.

Consulte o certificado de controlo junto para dados específicos do lote. Laboratórios médicos devem realizar um controlo de qualidade interno, utilizando controlos próprios e/ou um „pool“ de soros interno segundo os regulamentos da UE.

Recomenda-se que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores normais, com base nas suas próprias técnicas, controlos, equipamento e população de doentes.

No caso dos valores dos controlos não cumprirem os critérios, o teste é inválido e deverá ser repetido.

Devem verificar-se as seguintes questões técnicas: Prazo de validade dos reagentes (preparados), condições de armazenamento, pipetas, aparelhos, fotómetro, condições de incubação e métodos de lavagem.

Se os itens testados mostrarem valores aberrantes ou qualquer tipo de desvio ou se os critérios de avaliação não forem cumpridos sem causa plausível, contactar o fabricante ou o fornecedor do kit de teste.

Na **interpretação qualitativa** efectua-se a comparação da densidade óptica (DO) da amostra dos doentes com a densidade óptica do calibrador cut-off. Se a densidade óptica da amostra do doente se situar na gama de +/-20% do calibrador cut-off, então deve ser considerada como valor limite. Em caso de uma DO mais elevada, a amostra do doente é considerada positiva, amostras com DOs mais baixas são consideradas negativas.

Negativo:		**DO doente**	**<**	**0,8 x DO cut-off**		
Dudosos:	**0,8 x**	**DO cut-off**	**≤**	**DO doente**	**≤**	**1,2 x DO cut-off**
Positivo:		**DO doente**	**>**	**1,2 x DO cut-off**		

9 Dados Técnicos

Amostra:	soro
Volume de amostra:	10 µl de amostra diluída a 1:101 com tampão de amostra 1x
Tempo total de incubação:	90 minutos à temperatura 20-32 °C/68-89,6 °F
Intervaloo de calibração:	0-300 U/ml
Sensibilidade analítica:	1,0 U/ml
Armazenamento:	a 2-8 °C/35,6-46,4 °F utilize apenas os frascos originais
Número de determinações:	96 tests

10 Dados do teste / Características do teste

10.1 Sensibilidade analítica

A sensibilidade analítica de ***AESKULISA***® **tTg-A New Generation** de 1,0 U/ml foi determinada ao testar 30 vezes o tampão de amostra.

10.2 Especificidade e sensibilidade

As microplacas estão revestidas com transglutaminase de tecido humano recombinante e peptídeos específicos de gliadina. Não foi verificada qualquer reactividade cruzada com outros auto-antígenos. Para testar a reactividade cruzada com a gliadina, foram testados 7 soros positivos para gliadina e não reagiram com este ensaio, apesar de poder ser diferente para outros soros positivos de gliadina.

Para a determinação da sensibilidade e especificidade, foram avaliados no AESKULISA e num dispositivo predicado os soros de 165 pacientes que sofrem de doença celíaca (n=102) e doenças relacionadas (ver tabela inferior). Os resultados como uma comparação do dispositivo predicado e informação de doença são exibidos na tabela abaixo.

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

Acordo:	95,8 %
Sensibilidade:	96,9 %
Especificidade:	95,0 %

		Dispositivo predicado		
		Pos	Neg	Total
AESKULISA® tTg-A	Pos	25	42	67
	Neg	2	96	98
	Total	27	138	165

acordo rel.:	73,3 %
sensibilidade rel.:	92,6 %
especificidade rel.:	69,6 %

Doença	n.º testado	n.º AESKU positivo	n.º disp. pred. positivo
Doença celíaca	64 / 64	62 (96,9)	21 (32,8)
Doença celíaca (dieta sem glúten)	38 / 38	0 (0,0)	1 (2,6)
Controlo da doença (total)	70 / 210	5 (2,4)	5 (7,1)
Doença de Crohn	51 / 51	1 (2,0)	0 (0,0)
Doença de Crohn	0 / 58	0 (0,0)	n / d
Colite ulcerativa	4 / 4	0 (0,0)	1 (25,0)
Colite ulcerativa	0 / 2	0 (0,0)	n / d
Helmintíase	2 / 2	2 (100,0)	2 (100,0)
Intolerância à lactose	2 / 2	2 (100,0)	2 (100,0)
Soro positivo de gliadina	0 / 7	0 (0,0)	n / d
Dadores saudáveis	4 / 4	0 (0,0)	0 (0,0)
Dadores saudáveis	0 / 80	0 (0,0)	n / d

10.3 Linearidade

Foram analisados com este kit soros seleccionados e determinou-se que deviam diluir-se linearmente. No entanto, devido à natureza heterogénea dos auto-anticorpos humanos, podem existir amostras que não sigam esta regra.

Amostra No.	Factor de Diluição	Concentração medida (U/ml)	Concentração esperada (U/ml)	Recuperação (%)
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 Precisão

Para determinar a precisão do ensaio, avaliou-se a variabilidade (intra e inter-ensaio) através da análise da sua reproducibilidade em três amostras de soro. Estas amostras foram selecionadas para representar um intervalo acima da curva padrão (n=18). O intervalo aceite para CV é 10%. (n=24 / 18)

Intra-Ensaio		
Amostra No.	**Valor médio (U/ml)**	**CV (%)**
1	13,8	7,0
2	56,7	5,2
3	166,5	5,5

Inter-Ensaio		
Amostra No.	**Valor médio (U/ml)**	**CV (%)**
1	10,1	2,3
2	38,9	0,8
3	169,4	4,2

10.5 Calibração

Devido à não existência de uma calibração de referência internacional, este ensaio está calibrado em unidades arbitrárias (U/ml).

11 Bibliografia

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 Símbolos regulamentares

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	