AESKU.DIAGNOSTICS
THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS





AESKULISA®

THE DIAGNOSTIC TOOL THAT WORKS

INSTRUCTION MANUAL

AESKULISA tTg-A New Generation

Ref 3503



DIN EN ISO 13485

Manual de Instrucciones

Contenido

1 Utilización 1
2 Aplicación clínica y principio del ensayo 1
3 Contenido del equipo 2
4 Almacenamiento y Caducidad 2
5 Precauciones 3
6 Toma, manipulación y almacenamiento de las muestras 4
7 Procedimiento del ensayo 4
8 Interpretación Cuantitativa y Cualitativa 7
9 Datos Técnicos 8
10 Datos de funcionamiento 8
11 Bibliografía 11

AESKU.DIAGNOSTICS GmbH & Co. KG
Mikroforum Ring 2
55234 Wendelsheim, Germany
Tel: +49-6734-9622-0
Fax: +49-6734-9622-2222
Info@aesku.com
www.aesku.com

1 Utilización

AESKULISA tTg-A New Generation es un enzimoinmunoensayo en fase sólida para la detección cuantitativa y cualitativa de anticuerpos IgA contra neo-epitopos de transglutaminasa tisular (tTG) en suero humano. Al emplear el ensayo transglutaminasa recombinante humana y péptidos específicos de gliadina, expone neo-epitopos de tTg lo cual asegura una sensibilidad y especificidad del test significativamente incrementadas.
El ensayo es una herramienta para el diagnóstico y monitorización de la enfermedad celiaca (enteropatía por sensibilidad al gluten).

2 Aplicación clínica y principio del ensayo

La enteropatía por sensibilidad al gluten o enfermedad celiaca se caracteriza por la atrofia de las vellosidades del intestino delgado provocando la denominada mucosa lisa. Está causada por una intolerancia patológica a la Gliadina, que es la fracción soluble en alcohol del gluten en el trigo, en el centeno y en la cebada. Como la enfermedad celiaca está causada por la ingesta de gluten, una dieta libre de gluten, en consecuencia, cura completamente la enfermedad y así debe ser mantenida toda la vida. Si se reinicia el consumo de Gliadina se provoca el retorno de los síntomas. La enfermedad está asociada a HLA (>95% de los apcientes tienen DQ2 enREFd por DQA1*0501 y DQB1*0201) y se manifiesta a cualquier edad con un pico de inicio en la infancia temprana incluso en neonatos. Los ratios de incidencia van de 1 de cada 4000 hasta 1 de cada 300 en los países europeos.
El diagnóstico de la enfermedad celiaca se realiza a través de biopsia del intestino delgado (demostrando la mucosa lisa) y se apoya a través de marcadores serológicos. Los anticuerpos contra gliadina y los anticuerpos anti-endomisio (EMA) son de gran significación. Se detectan desde hace tiempo a través de inmunofluorescencia indirecta, lo cual se restringe solamente a la subclase IgA. La identificación de transglutaminasa tisular (tTG) como el antígeno diana principal de los EMA, proporcionó la oportunidad de un diagnóstico más sencillo y fiable de la enfermedad celiaca. La tTG es un enzima que después de un acto hiriente es liberada desde las células en donde se cree que ayuda en la reparación tisular.
Los anticuerpos anti-tTG muestran sensibilidad y especificidad más elevadas que los anticuerpos anti-Gliadina. Además, correlacionan estrechamente con la actividad de la enfermedad y de ahí que sean especialmente útiles para la monitorización de la dieta. La unión cruzada de la tTg con los péptidos específicos de gliadina da como resultado neo-epitopos de tTg. Al estar estos neo-epitopos más cerca estructuralmente de los antígenos fisiológicos, el test AESKULISA tTg de nueva generación, muestra un marcado incremento de la sensibilidad y especificidad. Estos epitopos no muestran reacciones cruzadas con la gliadina.
La determinación de anticuerpos IgG contra tTG es la única serología específica disponible para ese 2% a 5% de pacientes con deficiencia de IgA. Se ha detectado un elevado número de casos subclínicos realizando un screening para anti-tTg, fomentando la teoría que la mayoría de casos de enfermedad celiaca no se detectan ni se tratan (modelo Iceberg).

Principio del test
Las muestras de suero diluidas 1:101 se incuban en la microplaca revestida con el antígeno específico. Los anticuerpos de los pacientes, si están presentes en la muestra, se unen al antígeno. La fracción no unida es eliminada por el lavado en el paso siguiente. Después, las inmunoglobulinas anti-humanas conjudagas con peroxidasa (conjugado) se incuban y reaccionan con el complejo antígeno-anticuerpo de las muestras dentro de la microplaca. El conjugado no unido es retirado a través del lavado en el paso siguiente. La adición del substrato-TMB genera una reacción colorimétrica (azul) enzimática que se detiene a través de ácido diluido (el color cambia a amarillo). La tasa de formación de color por parte del cromógeno va en función de la cantidad de conjugado unido al complejo antígeno-anticuerpo y esto es proporcional a la concentración inicial de los respectivos anticuerpos en la muestra del paciente.

3 Contenido del equipo

PARA SER RECONSTITUIDO				
Artículo	Cantidad	Color del tapón	Color de la solución	Descripción/Contenido
Tampón de muestra (5x)	1 x 20 ml	Blanco	Amarillo	Concentrado 5 x Tris, Cloruro de sodio (NaCl), albúmina de suero bovino (BSA, por sus siglas en inglés), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Tampón de lavado (50x)	1 x 20 ml	Blanco	Verde	Concentrado 50 x Tris, Cloruro de sodio (NaCl), Tween 20, azida sódica < 0,1 % (conservante)
LISTO PARA EL USO				
Artículo	Cantidad	Color del tapón	Color de la solución	Descripción/Contenido
Control negativo	1 x 1,5 ml	Verde	Incoloro	Material control (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Control positivo	1 x 1,5 ml	Rojo	Amarillo	Material control (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Calibrador cut-off	1 x 1,5 ml	Azul	Amarillo	Material calibrador (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Calibradores	6 x 1,5 ml	Blanco	Amarillo *	Concentración de cada calibrador: 0, 3, 10, 30, 100, 300 U/ml. Material calibrador (diluido), albúmina de suero bovino (BSA), azida sódica < 0,1 % (conservante)
Conjugado, IgA	1 x 15 ml	Rojo	Rojo	Contiene: Inmunoglobulinas conjugadas con peroxidasa de rábano picante, albúmina de suero bovino (BSA)
Substrato TMB	1 x 15 ml	Negro	Incoloro	Terametilbenzidina estabilizada y peróxido de hidrógeno (TMB/H_2O_2)
Solución de paro	1 x 15 ml	Blanco	Incoloro	Ácido clorhídrico 1M
Placa Microtiter	12 x 8 tiras de pocillos	N/D	N/D	Con tiras rompibles de pocillos. Consulte el párrafo 1 para obtener información sobre revestimiento.

* La intensidad del color aumenta con la concentración

MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO
Filtro de lectura de 450 nm para lector de tiras Microtiter y filtro de referencia recomendado de 620 nm (600-690 nm). Equipo de cristal (cilindro 100-1000 ml), tubos de ensayo para disoluciones. Mezclador espiral, pipetas de precisión (10, 100, 200, 500, 1000 µl) o pipeta múltiple ajustable (100-1000 µl). Dispositivo de lavado de la microplaca (pipeta de repetición o microcanal de 300 µl o sistema automatizado), papel absorbente. Nuestras pruebas se han diseñado para uso con agua destilada, de acuerdo con la definición de las farmacopeas de Estados Unidos (USP 26 - NF 21) y Europa (Eur.Ph. 4ª ed.).

4 Almacenamiento y Caducidad

Guarde todos los reactivos y la microplaca a 2-8°C/35-46°F, en sus envases originales. Una vez preparadas, las soluciones reconstituidas son estables durante 1 mes a 2-8°C/35-46°F, por lo menos. Los reactivos y la microplaca deben ser utilizados solamente dentro del margen de caducidad indicado en cada componente. Evite la exposición de la solución TMB a la luz intensa. Guarde las microplacas en su sobre correspondiente, incluyendo el desecante, y séllelo bien.

5 Precauciones

5.1 Datos de riesgo para la salud

ESTE PRODUCTO ES SOLO PARA EL USO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO . Por lo tanto, solamente el personal formado y especialmente asesorado en los métodos de diagnóstico in vitro puede realizar el ensayo. Aunque este producto no se considera especialmente tóxico ni peligroso en las condiciones de uso previsto, siga estas recomendaciones para garantizar un nivel de seguridad óptimo:

Recomendaciones y precauciones

Este equipo contiene componentes potencialmente peligrosos. Aunque los reactivos del equipo no están clasificados como irritantes de los ojos y la piel, recomendamos evitar el contacto de los mismos con los ojos y con la piel y utilizar guantes desechables.

¡AVISO! Los calibradores, controles y agentes contienen ázida de sodio (NaN_3) como conservante. El NaN_3 puede ser tóxico si se ingiere o se absorbe por medio de la piel o de los ojos. El NaN_3 puede reaccionar con la fontanería de plomo y de cobre y formar ázida metálica muy explosiva. Al tirar tirarla, deje correr una gran cantidad de agua para evitar que la ázida tome consistencia. Por favor, consulte los procesos de descontaminación del CDC u otras directrices locales o nacionales.

No fume, coma o beba mientras manipule el equipo. No pipetee con la boca.

Todo el material de fuente biológico utilizado en algunos reactivos de este equipo (por ejemplo controles, standards) ha sido analizado a través de métodos aprobados y ha resultado ser negativo para HbsAg, Hepatitis C y HIV 1. No obstante, ningún test puede completamente garantizar la ausencia de agentes virales en ese tipo de material. Por lo tanto, manipule los controles, standards y muestras de los pacientes como si se trataran de auténticos transmisores de enfermedades infecciosas y según los requerimientos de manipulación de su país.

Como se indica en la sección Contenido del equipo, el equipo contiene material de origen animal que debe manipularse de acuerdo con la normativa nacional.

5.2 Instrucciones generales para la utilización

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

No mezcle o sustituya Control, Calibradores, Conjugado o microplacas de números de lote diferentes. Esto podría llevar a una variación de los resultados.

Deje que todos los componentes alcancen la temperatura (20-32°C/68-89,6°F) antes de utilizarlos. Agítelos bien y siga el esquema de incubación recomendado para una óptima realización del ensayo.

Incubación: Se recomienda realizar las pruebas a 30ºC/86°F para sistemas automatizados.

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

Pipetee siempre la solución de substrato con puntas nuevas. Protega este reactivo de la luz. Nunca pipetee el conjugado con puntas previamente utilizadas con otros reactivos.

Un diagnóstico clínico definitivo no debe estar basado solamente en los resultados del ensayo realizado. Debe ser elaborado por el médico después de haber evaluado todos los hallazgos clínicos y de laboratorio. Es necesario verificar el diagnóstico por medio de distintos métodos.

6 Toma, manipulación y almacenamiento de las muestras

Utilice preferentemente muestras de suero recién extraídas. La extracción de sangre debe seguir los requerimientos de protocolo de su país.
No utilice muestras ictéricas, lipémicas, hemolizadas o contaminadas por bacterias. Los sueros con partículas deben ser purificados por centrifugación a baja velocidad (<1000 x g). Las muestras de sangre deben ser recogidas en tubos limpios, secos y vacíos.

Tras la separación, las muestras de plasma han de utilizarse durante las primeras 8 horas y conservarse herméticamente cerradas a 2-8ºC/35-46ºF hasta 48 horas o congeladas a -20ºC/-4ºF durante periodos más prolongados

7 Procedimiento del ensayo

7.1 Preparativos antes de dispensar

Diluya los reactivos concentrados:

Diluya el tampón de muestra concentrado a 1:5 con agua destilada (p.e. 20 ml en 80 ml)
Diluya el tampón de lavado concentrado a 1:50 con agua destilada (p.e. 20 ml en 980 ml).

A fin de evitar errores, es aconsejable marcar las tapas de los distintos calibradores.

Muestras:

Diluya las muestras de suero a 1:101 con tampón de muestra (1x)

p.e. 1000 µl tampón de muestra (1x) + 10 µl suero. Mezcle bien la dilución.

Lavado:

Prepare 20 ml de tampón de lavado diluido (1x) para 8 pocillos o 200 ml para 96 pocillos p.e. 4 ml de concentrado en 196 ml de agua destilada.

Lavado automático:

Tenga en cuenta los volúmenes de exceso requeridos para purgar el instrumento y el volumen muerto en el dispensador del aparato.

Lavado manual:

Descarte el líquido de los pocillos invertiendo la placa. Golpee vigorosamente el marco con los micropocillos sobre papel absorbente limpio manteniendo la placa invertida. Dispense 300 µl de tampón de lavado diluido dentro de cada pocillo y espere 20 segundos. Repita el procedimiento entero dos veces más.

Microplacas:

Calcule el número de pocillos necesarios para el ensayo. Saque los pocillos no utlizados del marco, póngalos de nuevo en la bolsa de plástico suministrada junto con el desecante y séllela bien (2-8°C/35-46°F).

7.2 Esquema de dispensación

Se sugiere dispensar los calibradores, controles y muestras como sigue:

Para una interpretación cuantitativa

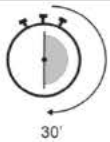
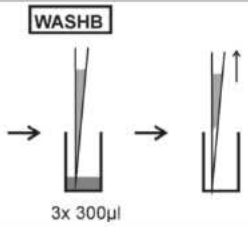
	1	2	3	4...
A	Cal A	Cal E	P1	
B	Cal A	Cal E	P1	
C	Cal B	Cal F	P2	
D	Cal B	Cal F	P2	
E	Cal C	PC	P3	
F	Cal C	PC	P3	
G	Cal D	NC	...	
H	Cal D	NC	...	

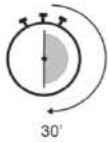
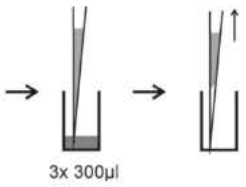
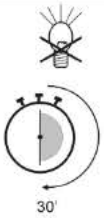
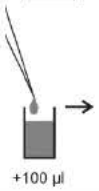
Para una interpretación cualitativa

	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 Esquema de trabajo

Paso	*Descripción*
1.	Asegúrese de que los preparativos del paso 7.1 (arriba) se han llevado a cabo antes del pipeteado.
2.	Siga los pasos descritos a continuación de acuerdo con los resultados de interpretación cuantitativa y cualitativa que se deseen obtener:
	CONTROLES y MUESTRAS
3.	 Pipetee en los pocillos designados (tal como se describe en el capítulo 7.2) 100 µl de: a. Calibradores (CAL.A a CAL.F) para interp. *CUANTITATIVA* o b. Calibrador cut-off (CC) para interp. *CUALITATIVA* y 100 µl de cada uno de los siguientes: • Control negativo (CN) y control positivo (CP), y • Suero diluido de los pacientes (P1, P2...)
4.	 Incube durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F.
5.	 Lave tres veces con 300 µl de tampón de lavado (diluido al 1:50).

	CONJUGADO	
6.	CONJ 	Pipetee 100 µl de conjugado en cada pocillo.
7.		Incube durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F.
8.	WASHB 	Lave tres veces con 300 µl de tampón de lavado (diluido al 1:50).
	SUBSTRATO	
9.	SUB 	Pipetee 100 µl de substrato TMB en cada pocillo.
10.		Incube durante 30 minutos a 20-32°C/68-89,6°F y evite que reciba luz intensa.
	PARO	
11.	STOP 	Pipetee 100 µl de solución de paro en cada pocillo siguiendo el mismo orden que al pipetear el substrato.
12.		Incube durante 5 minutos como mínimo.
13.		Agite la placa suavemente durante 5 seg.
14.	OD_{450} - OD_{620}  450/620 nm	Lea la absorbancia a 450 nm (se recomienda 450/620 nm) durante los 30 minutos siguientes.

8 Interpretación Cuantitativa y Cualitativa

Para una **interpretación cuantitativa** establezca la curva standard trazando la densidad óptica (DO) de cada calibrador (eje y) con respecto a los correspondientes valores de concentración en U/ml (eje x). Para unos mejores resultados recomendamos coordenadas log/lin y un ajuste a 4-PL. Partiendo de la DO de cada muestra, lea la correspondiente concentración de anticuerpo expresada en U/ml.

Rango Normal	Indeterminado	Resultados Positivos
< 12 U/ml	12 - 18 U/ml	>18 U/ml

Ejemplo de curva standard
NO utilice este ejemplo para interpretar el resultado del paciente

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

Ejemplo de cálculo

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

Las muestras que se encuentren por encima del rango máximo de calibrador se deberán especificar como >Máx. Será necesario diluirlas según se considere apropiado y repetir el ensayo. Las muestras que se encuentren por debajo del rango del calibrador deberán especificarse como < Mín.
Para conocer los datos específicos de lote, consulte el documento adjunto de control de calidad. Los laboratorios deberían realizar un Control de Calidad interno utilizando controles propios y/o un „pool“ de sueros interno tal y como contemplan las regulaciones nacionales.

Cada laboratorio debería establecer su rango normal propio basado en sus propias técnicas, controles, equipamiento y población según sus propios procedimientos establecidos.

En caso de que los valores de los controles no se ajusten a los criterios, el ensayo se considerará válido y deberá repetirse.

Será necesario realizar las siguientes comprobaciones de problemas técnicos: Fechas de caducidad de los reactivos (preparados), condiciones de almacenamiento, pipetas, dispositivos, fotómetro, condiciones de incubación y métodos de lavado.

Si al analizar los elementos se obtuvieron valores exagerados, se produjo algún tipo de desviación o los criterios de validación no se cumplieron por motivos inexplicables, póngase en contacto con el fabricante o el proveedor del producto.

Para la **interpretación cualitativa** lea la densidad óptica del calibrador cut-off y la de las muestras de los pacientes. Compare las DO de los pacientes con la DO del calibrador cut-off. Para la interpretación cualitativa, recomendamos que establezca un rango del 20% al rededor del valor del cut-off como zona indeterminada. Todas las muestras que tengan DO superior a este rango se consideran positivas y las muestras con valores de DO inferiores a este rango se consideran negativas.

Negativo		**DO paciente**	**<**	**0,8 x DO cut-off**		
Indeterminado	**0,8 x**	**DO cut-off**	**≤**	**DO paciente**	**≤**	**1,2 x DO cut-off**
Positivo		**DO paciente**	**>**	**1,2 x OD cut-off**		

9 Datos Técnicos

Muestra:	suero
Volumen de muestra:	10 µl de muestra diluida a 1:101 con tampón de muestra 1x
Tiempo total de incubación:	90 minutos a temperatura 20-32°C/68-89,6°F
Rango de calibración:	0-300 U/ml
Sensibilidad analítica:	1,0 U/ml
Almacenamiento:	a 2-8°C/35-46°F utilice solo los viales originales
Número de determinaciones:	96 tests

10 Datos de funcionamiento

10.1 Sensibilidad analítica

La prueba del agente de muestra 30 veces en AESKULISA tTg-A New Generation produjo una sensibilidad analítica de 1,0 U/ml.

10.2 Especificidad y Sensibilidad

Las microplacas se han revestido con transglutaminasa tisular humana recombinante y péptidos de gliadina específicos. No se han encontrado reactividades cruzadas con otros autoantígenos. Para evaluar la reactividad cruzada con la gliadina, se analizaron 7 sueros positivos para gliadina y no reaccionaron con este ensayo, aunque el resultado puede ser diferente para otros sueros positivos para gliadina.

Para determinar la sensibilidad y la especificidad, se analizaron los sueros de 165 pacientes celiacos (n=102) y con enfermedades relacionadas (consulte la tabla inferior) en el AESKULISA y en un dispositivo homologado. En las siguientes tablas, se muestran los resultados en comparación con el dispositivo homologado y la información sobre las enfermedades.

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

Coincidencia:	95,8 %
Sensibilidad:	96,9 %
Especifidad:	95,0 %

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

Coincidencia rel.:	73,3 %
Sensibilidad rel.:	92,6 %
Especifidad rel.:	69,6 %

Enfermedad	# analizados	# positivos con AESKU	# positivos con dispositivo homologado
Enfermedad celiaca	64 / 64	62 (96.9)	21 (32.8)
Enfermedad celiaca (dieta sin gluten)	38 / 38	0 (0.0)	1 (2.6)
Control de la enfermedad (total)	70 / 210	5 (2.4)	5 (7.1)
Enfermedad de Crohn	51 / 51	1 (2.0)	0 (0.0)
Enfermedad de 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
Helmintiasis	2 / 2	2 (100.0)	2 (100.0)
Intolerancia a la lactosa	2 / 2	2 (100.0)	2 (100.0)
Suero positivo para gliadina	0 / 7	0 (0.0)	n / d
Donantes sanos	4 / 4	0 (0.0)	0 (0.0)
Donantes sanos	0 / 80	0 (0.0)	n / d

10.3 Linealidad

Se han analizado con este equipo sueros seleccionados y se encontró que debían diluirse linealmente. No obstante, debido a la naturaleza heterogénea de los autoanticuerpos humanos, pueden haber muestras que no sigan esta regla.

Muestra Nº	Factor de dilución	concentración medida (U/ml)	concentración esperada (U/ml)	Recuperación (%)
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 Precisión

Para determinar la precisión del ensayo, se valoró la variabilidad (intra e inter-ensayo) a través del análisis de su reproducibilidad en tres muestras de suero. Estas muestras fueron seleccionadas para representar un rango por encima de la curva standard. (n=18). El rango aceptado para CV es del 10%. (n = 24/18)

Intra-Ensayo		
Muestra Nº	**Media (U/ml)**	**CV (%)**
1	13,8	7,0
2	56,7	5,2
3	166,5	5,5

Inter-Ensayo		
Muestra Nº	**Media (U/ml)**	**CV (%)**
1	10,1	2,3
2	38,9	0,8
3	169,4	4,2

10.5 Calibración

Debido a la no existencia de una calibración de referencia internacional, este ensayo está calibrado en unidades arbitrarias (U/ml).

11 Bibliografía

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.

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	
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	
i	¨ 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	¨ Store at 2-8°C (35-46°F)
	¨ Conserver à 2-8°C	¨ Conservar a 2-8°C
	¨ Lagerung bei 2-8°C	¨ Φυλάσσεται στους 2-8°C
	¨ Conservar entre 2-8°C	
	¨ 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	
RC	¨ Recupero	¨ Recovery
	¨ Corrélation	¨ Recuperado
	¨ Wiederfindung	¨ Ανάκτηση
	¨ Recuperacão	
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	