

Anti-tTG sIgA/IgA ELISA Kit

*Zur in vitro Bestimmung der Humanen Gewebetransglutaminase
sIgA/IgA Antikörper in Stuhl*

*For the in vitro determination of human tissue transglutaminase
sIgA/IgA antibodies in stool*

Nur zu wissenschaftlichen Zwecken / For research use only

Gültig ab/valid from 30.05.2005

Artikelnummer/Catalogue No.: K 9392

Packungsgröße/Package size: 96 Tests/96 determinations

Lagerung/Storage: 2 - 8 °C

Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D 64625 Bensheim

Tel.: ++49 6251 70190-0

Fax: ++ 49 6251 849430

e.mail: Immundiagnostik@t-online.de

www.Immundiagnostik.com

Inhaltsverzeichnis	Seite/Page
Tabel of content	3
1. VERWENDUNGSZWECK	4
2. EINLEITUNG	4
3. TESTPRINZIP	4
4. INHALT DER TESTPACKUNG	5
5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	5
6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN	6
7. HINWEISE UND VORSICHTSMABNAHMEN	7
8. PROBENVORBEREITUNG	7
9. TESTDURCHFÜHRUNG	7
HINWEISE	7
PIPETTIERSCHEMA	8
10. ERGEBNISSE	9
11. EINSCHRÄNKUNGEN	9
12. QUALITÄTSKONTROLLE	9
ERWARTETE ERGEBNISSE	9
13. TESTCHARAKTERISTIKA	10
PRÄZISION UND REPRODUZIERBARKEIT	10
14. LITERATUR	10
15. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	11

Tabel of content Page

1. INTENDED USE	13
2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST	13
4. MATERIAL SUPPLIED	14
5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	14
6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	15
7. PRECAUTIONS	15
8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION	16
9. ASSAY PROCEDURE	16
PROCEDURAL NOTES	16
TEST PROCEDURE	17
10. RESULTS	18
11. LIMITATIONS	18
12. QUALITY CONTROL	18
EXPECTED VALUES	18
13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	19
PRECISION AND REPRODUCIBILITY	19
14. REFERENCES	20
15. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	20

1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Assay ist für die Bestimmung von **Anti-ht Transglutaminase-Antikörpern** aus Stuhl. Nur zu wissenschaftlichen Zwecken.

2. EINLEITUNG

Dieterich et al. konnten 1997 das bis dahin unbekannte endomysiale Antigen als gewebespezifische Transglutaminase identifizieren. Diese Entdeckung legte den Grundstein für die Entwicklung eines hochspezifischen und sensitiven ELISAs zum Nachweis der Antikörper gegen das endomysiale Antigen, der die aufwendigen Verfahren - wie z. B. die Beurteilung von Gewebeschnitten unter dem Fluoreszenzmikroskop - hinfällig macht.

Durch die Bestimmung der **Anti-ht Transglutaminase-Antikörper** wird der Patient nicht weiter belastet, da eine anschließende Biopsie („Gold Standard“) des Dünndarms bei der Verlaufkontrolle und dem Screening nicht zwingend notwendig ist.

Indikationen

- Autoimmunerkrankungen
- Nahrungsmittelunverträglichkeiten

3. TESTPRINZIP

Das Antigen Transglutaminase ist auf einer Mikrotiterplatte fixiert. Die in der Probe vorhandenen Anti-ht Transglutaminase-Antikörper IgA/sIgA binden in einem Inkubationsschritt an das Antigen. Nach einem Waschschrift wird mit einem POD-markierten Antikörpergemisch (IgA/sIgA) detektiert. Die gebundene Peroxidase menge ist direkt proportional den Anti-ht Transglutaminase-Antikörpern. Als Substrat wird TMB eingesetzt. Die entstandene chromogene Verbindung kann photometrisch bei 450 nm gemessen werden.

4. INHALT DER TESTPACKUNG

Artikel Nr.	Kit Komponenten	Menge
K 9392MTP	Mikrotiterplatte, vorbeschichtet (einzeln abbrechbare Kavitäten)	96
K 9392WP	ELISA Waschpufferkonzentrat 10x (tTG-IgA/IgA)	2 x 100 ml
K 9392K	Konjugat (Peroxidase-markiert)	200 µl
K 9392KO1	Kontrollen negativ, lyophilisiert	4 vials
K 9392KO2	Kontrollen positiv, lyophilisiert	4 vials
K 9392TMB	TMB Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	1 x 15 ml
K 9392AC	ELISA Stopplösung, gebrauchsfertig	1 x 7 ml

5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Präzisionspipetten und Pipettenspitzen für den Einmalgebrauch mit variablen Volumina von 10 - 1000 µl
- Mikrotiterplattenschüttler
- Multikanal- bzw. Multipipette
- Zentrifuge, 3000 x g
- Vortex-Mixer
- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Mikrotiterplattenreader mit Filter 450 nm

6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Beim Mehrfachansatz der Platte ist bitte darauf zu achten, daß die Reagenzien wie in der Vorschrift beschrieben gelagert werden und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden** (z.B. Peroxidase-markierter Antikörper ist in der größten Verdünnungsstufe nicht haltbar). Der Kit kann so bis zu 4 x je nach Probenaufkommen (Innerhalb des angegebenen Verfallsdatums) verwendet werden.
- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch kurz anzentrifugiert werden, um Volumenverluste zu vermeiden.
- Das **Waschpufferkonzentrat** muß vor Gebrauch **1:10** in aqua dest. verdünnt werden (100 ml Konzentrat + 900 ml aqua dest). Aufgrund der hohen Salzkonzentration in den Konzentraten kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich bei Raumtemperatur auf. Das **Pufferkonzentrat** kann bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Die **verdünnte Pufferlösung** ist bei **2-8 °C 1 Monat** (in einem geschlossenen Gefäß) haltbar.

Achtung: Das Waschpufferkonzentrat unterscheidet sich wesentlich von den üblichen Immundiagnostik-Waschpufferkonzentraten, die für andere Parameter verwendet werden.

- Die lyophilisierten **Kontrollen (positiv und negativ)** werden mit **500 µl** Waschpuffer rekonstituiert. Um eine vollständige Lösung der rekonstituierten Kontrollen zu gewährleisten müssen sie mindestens 10 min bei Raumtemperatur unter gelegentlichem Mischen stehen bleiben. Die lyophilisierten Kontrollen sind bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) haltbar. Rekonstituierte Kontrollen können **nicht** aufbewahrt werden.
- Der **POD-Antikörper (Konjugat)** wird **1:100** in Waschpuffer verdünnt (100 µl POD-Antikörper in 10 ml Waschpuffer pipettieren). Der unverdünnte POD-Antikörper ist bei **2 –8 °C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. Die verdünnte Antikörperlösung kann **nicht** aufbewahrt werden.

7. HINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Standards und Kontrollen sind auf Humanserum aufgebaut. Sie sind auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befundet worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Die Stopplösung besteht aus verdünnter H_2SO_4 . H_2SO_4 ist eine starke Säure und muß auch im verdünnten Zustand mit Vorsicht behandelt werden. H_2SO_4 verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Säure muß die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

8. PROBENVORBEREITUNG

Stuhlproben

100 mg Stuhl einwiegen und in 5 ml des Waschpuffers lösen (sehr gut mischen). Danach wird die Suspension für 10 Minuten bei 3000 rpm zentrifugiert. 1 ml des Überstandes wird abgenommen, in ein Eppendorfröhrchen überführt und ein weiteres Mal in einer Eppendorfszentrifuge bei 13000 rpm für 5 min. zentrifugiert. 100 µl des Überstandes werden in den Test eingebracht.

Zur einfacheren Dosierung und Homogenisierung des Probenmaterials empfehlen wir das Probenvorbereitungssystem der Fa. Roche Diagnostics AG (Best. Nr. 745804).

Wir empfehlen den Stuhl für jede Messung frisch einzuwiegen. Stuhlsuspensionen können nicht gelagert werden.

Stuhlproben können bei $-20^{\circ}C$ 4 Wochen gelagert werden. Mehrfaches Einfrieren und Auftauen ist zu vermeiden.

9. TESTDURCHFÜHRUNG

Hinweise

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mitgemessen werden.
- Inkubationszeit, Temperatur und Pipettiervolumen sind vom Hersteller festgelegt. Jegliche Abweichung der Testvorschrift, die nicht mit dem

Hersteller koordiniert wurde, kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Immundiagnostik übernimmt keine Haftung.

- Der Assay ist immer, nach der im Kit beigefügten Arbeitsanleitung abzuarbeiten.

Pipettierschema

Die vorbeschichtete Mikrotiterplatte vor Gebrauch 5x mit je 250 µl Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.

Die Bestimmungen sind in der Mikrotiterplatte in Doppelwerten durchzuführen.

1. **100 µl** Kontrollen und vorbereitete Proben pro Vertiefung pipettieren.
2. **1 Stunde** bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren.
3. Den Inhalt der Platte verwerfen und **5 x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.
4. **100 µl** verdünntes Konjugat in jede Vertiefung pipettieren.
5. **1 Stunde** bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren.
6. Den Inhalt der Platte verwerfen und **5 x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.
7. **100 µl** TMB-Substratlösung pro Vertiefung pipettieren.
8. **10 - 20 Minuten** (entsprechend der Farbdifferenzierung) bei Raumtemperatur inkubieren.
9. **50 µl** Stopplösung pro Vertiefung zusetzen und kurz mischen.
10. Die Extinktion wird **sofort** im Mikrotiterplattenphotometer bei **450 nm** gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) gemessen. Sollte die Extinktion des höchsten Standards den Meßbereich des Photometers übersteigen, sollte sofort bei 405 nm gegen 620 nm (690 nm) gemessen werden.

10. ERGEBNISSE

*Mittelwert OD der negativ Kontrolle * Faktor(siehe Datenblatt)*

= cut off = 100 U/l

Beispiel cut off

0.104 X 5 (Faktor Datenblatt) = 0.520 (cut off) = 100 U/l

Der cut off wird im Rechenbeispiel bei 0.520 festgelegt.

Proben die eine höhere mittlere optische Dichte haben sind somit positiv.

Beispiel positive Patientenprobe

Patienten Extinktion = 0.685

0.520 = 100 U/l

$$0.685 = X \quad X = \frac{0.685 * 100}{0.520} = 131.7 \text{ U/l}$$

Berechnung gilt nur für eine Einwaage von 100 mg Stuhl / 5 ml Puffer (oder für eine 1:50 Verdünnung).

11. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit einer Anti-htTransglutaminase Konzentration größer der positiven Kontrolle werden mit Puffer verdünnt und nochmals im Assay eingesetzt.

12. QUALITÄTSKONTROLLE

Wir empfehlen die Kontrollen oder Stuhl Pools, bei jedem Testansatz mitzumessen. Die Ergebnisse der Kontrollen müssen auf Richtigkeit überprüft werden. Liegen eine oder mehrere Kontrollen außerhalb des angegebenen Bereiches kann Immundiagnostik die Richtigkeit der Proben nicht gewährleisten.

Erwartete Ergebnisse

Normwerte

Stuhl: < 100 U/l

Wir empfehlen jedem Labor einen eigenen Normwertbereich zu etablieren.

13. TESTCHARAKTERISTIKA

Präzision und Reproduzierbarkeit

Intra-Assay-Variation

Die Reproduzierbarkeit von zwei Proben innerhalb einer Messserie wurde geprüft. Zwei Proben wurden 20 mal in einem anti-htTransglutaminase-Antikörper-ELISA von einer Person angesetzt.

Intra-Assay VK n= 20

Probe	Anti-htTG-Ak Mittelwert [U/l]	Intra-Assay Vk [%]
1	131.5	4.7
2	72.7	3.3

Inter-Assay-Variation

Es wird die Reproduzierbarkeit von zwei Proben an unterschiedlichen Tagen geprüft. Zwei Proben wurden an verschiedenen Tagen und verschiedenen Personen im anti-htTransglutaminase-Antikörper-ELISA gemessen.

Inter-Assay VK n= 20

Probe	Anti-htTG-Ak Mittelwert [U/l]	Inter-Assay Vk [%]
1	126.6	7.9
2	122.1	6.4

14. LITERATUR

1. Dieterich et al.: Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. (1997) NatMed 7(3)
2. Rieken et al.: Gewebetansglutaminase als Autoantigen bei der einheimischen Sprue. (1998) Dtsch.med.Wschr.123, 1454-1460
3. Green et al.: The Diagnosis of celiac disease 1998. (1998) Clinical Perspectives Gastroenterology.
4. Mothes: Zöliakie-Bedeutung von Transglutaminasen und Autoantikörpern. (1997) Münch.med. Wschr.139.

15. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Falls für die Herstellung der Testkomponenten Humanseren verwendet wurde, sind diese auf HIV und Hepatitis B getestet und für negativ befundet worden. Jedoch sollten die Testkomponenten als Vorsichtsmaßnahme immer wie potentiell infektiöses Material behandelt werden.
- Die Testkomponenten enthalten zum Schutz vor bakteriellen Kontaminationen Natriumazid oder Thimerosal. Natriumazid/Thimerosal sind giftig. Substrate für enzymatische Farbreaktionen sind als giftig und karzinogen beschrieben. Jeder Kontakt mit der Haut oder der Schleimhaut ist zu vermeiden.
- Alle im Test enthaltenen Reagenzien dürfen ausschließlich zu wissenschaftlichen Zwecken oder, wenn vermerkt, zur in vitro Diagnostik eingesetzt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des auf der Verpackung angegebenen Datums nicht mehr verwendet werden. Einzelkomponenten verschiedener Chargen dürfen nicht gemischt oder ausgetauscht werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die, für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- Die charakteristischen Testdaten wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden firmenintern festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. Die Firma Immundiagnostik AG übernimmt für die hierdurch entstandenen Schäden und Folgeschäden keine Haftung.
- Bei Gewährleistungsansprüchen ist das beanstandete Material mit schriftlicher Erklärung innerhalb von 14 Tagen zum Hersteller- der Immundiagnostik AG zurück zu senden.

Arbeitsanleitung/Manual

Anti-htTG sIgA/IgA ELISA Kit

*For the in vitro determination of human tissue
transglutaminase sIgA/IgA in stool*

For research use only

Gültig ab/valid from 30.05.2005

Artikelnummer/Catalogue No.: K 9392

Packungsgröße/Package size: 96 Tests/96 determinations

Lagerung/Storage: 2 - 8 °C

1. INTENDED USE

The *Immundiagnostik* Assay is intended for the quantitative determination of **anti-htTransglutaminase- antibodies** in faeces. For research use only.

2. SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

In most celiac patients, one usually observes several disorders, like malabsorption, infertility, osteoporosis and delayed growth of children. But it has also been widely reported that celiac disease is associated with a whole series of autoimmune disease, e.g. Dermatitis herpetiformis Duhring, Diabetes mellitus, rheumatoid Arthritis, IgA-nephritis, neuro-psychiatric disorders, Hashimoto-Thyreoditis/M. Basedow and an increased risk of developing malignant T cell lymphoma.

Dieterich et al. have shown, that tissue **transglutaminase** (tTG) is the predominant, if not the sole, endomysial auto antigen characteristic for celiac disease.

Because the prevalence of associated autoimmune disease in most cases is high, it is advisable to look for autoantibodies against tissue **transglutaminase** (tTG) as marker for these autoimmune disease.

Indication

- Autoimmune disease
- Food intolerance

3. PRINCIPLE OF THE TEST

The **Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay** (ELISA) is used for semiquantitative determination of anti-ht Transglutaminase antibodies (IgA/sIgA) in faeces. In a first incubation step, the anti-ht Transglutaminase-antibodies in the sample are bound to their antigen (human, recombinant Transglutaminase), which is immobilised to the surface of the microtitre plates. To remove all unbound foreign substances, a washing step is carried out. In a second incubation step, a POD-labeled antibody mix (IgA/sIgA) is added. After another washing step, to remove all unbound antibodies, the solid phase is incubated with the substrate, tetramethylbenzidine (TMB). An acidic stop solution is then added to stop the reaction. The color converts from blue to yellow. The intensity of the yellow color is directly proportional to the amount of bound antibodies and can be determined photometrically at 450 nm.

4. MATERIAL SUPPLIED

Catalogue No	Kit Components	Quantity
K 9392MTP	One holder with precoated strips	96
K 9392WP	ELISA wash buffer concentrate 10x (tTGslgA/IgA)	2 x 100 ml
K 9392K	Conjugate (POD-antibody)	200 µl
K 9392KO1	Control negative, lyophilized	4 vials
K 9392KO2	Control positive, lyophilized	4 vials
K 9392TMB	TMB substrate (Tetramethylbenzidine)	1 x 15 ml
K 9392AC	ELISA stop solution, ready to use	1 x 7 ml

5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Deionized water
- Precision pipettors calibrated to deliver 50-100 µl
- A multi-channel dispenser or repeating dispenser
- Centrifuge capable of 3000 x g
- Vortex-Mixer
- Microplate reader 450 nm

6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

- The **ELISA wash buffer concentrate** should be diluted with Aqua dest. **1:10** before use (add 900 ml A. dest. to 100 ml concentrate). Crystals could occur due to high salt concentration. The crystals have to be resuspended **before dilution of the buffer solutions** using a water bath (37°C). The buffer concentrates are stable at 2-8°C until the expiry date stated on the label. Diluted solutions could be stored at 2-8°C for 1 month.
- The **controls** (positive and negative) have to be reconstituted with **500 µl** of **ELISA washing buffer**. Allow the vials to stand for **10 minutes** and then mix thoroughly by gentle inversion to insure complete reconstitution. Reconstituted controls are **not stable** and can **not** be stored.
- The **POD antibody** has to be diluted **1:100** in ELISA wash buffer (100 µl POD antibody and 10 ml ELISA wash buffer). The antibody is stable at 2 - 8°C until expiry date given on the label. Diluted antibody solution is **not stable** and can **not** be stored.

7. PRECAUTIONS

- For in vitro diagnostic use only.
- The calibrators and controls contain human source material which was tested and found to be non-reactive to HBsAg, anti-HIV-1/2. Since no method can offer complete assurance that hepatitis B virus, HIV-1/2 or other infectious agents are absent, these reagents should be handled as if potentially infectious.
- The stop Solution consists sulfuric acid, a strong acid. Although diluted, it still must be handled with care. It can cause burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spill should be removed immediately with copious quantities of water. Do not breath vapor and avoid inhalation.
- Reagents should not be used beyond the expiration date stated kit label.

8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Faeces

Give about **100 mg** of the sample (please note the exact weight for the calculation) to **5 ml** of the wash buffer and mix. Centrifuge the diluted sample for 10 min at 3000 rpm. 1 ml supernatant is given into an eppendorf tube and centrifuged once more at 13.000 rpm for 5 min. **100 µl** of this resulting supernatant is used for the assay.

Immundiagnostik recommends the use of the sample tubes from Roche Diagnostics AG (Order number: 745804) for sample preparation.

We recommend to weight out the stool samples for each run new. Supernatant is not stable and can't be stored.

Stool samples can be stored at -20°C for 4 weeks. Avoid thawing and freezing cycles.

9. ASSAY PROCEDURE

Procedural notes

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- The quality control guidelines should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the different components have been defined by the producer. Any variations of the test procedure, without consulting the producer, may influence the test results. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage.
- Perform the assay according to the manual delivered with the kit.

Test procedure

Wash the precoated microtiter plate 5 x with 250 µl ELISA wash buffer. Carry out the tests in duplicate.

1. Add **100 µl** controls solutions and prediluted patient samples
2. Incubate for **1 hour**, shaking on a horizontal mixer, at room temperature.
3. Decant the content of the plate and wash the wells **5 x with 250 µl** ELISA wash buffer.
4. Add **100 µl** Conjugate
5. Incubate for **1 hour**, shaking on a horizontal mixer, at room temperature.
6. Decant the content of the plate and wash the wells **5 x with 250µl** ELISA wash buffer
7. Add **100 µl** TMB substrate solution.
8. Incubate for **10 - 20 minutes** at room temperature.
9. Add **50 µl** stop solution and mix shortly.
10. Determine absorption with an ELISA reader at **450 nm** against 620 nm as reference. If no reference wavelength is available, read only at 450 nm. If the extinction of the highest standard exceeds the measurement range of the photometer, absorption must be measured immediately at 405 nm against 620 nm as reference.

10. RESULTS

Calculation

*mean OD negative reference sera * Factor(See data sheet)*

= cut off = 100 U/l

For example: cut off

0.104 X 5 (factor data sheet) = 0.520 (cut off) = 100 U/l

The cut off OD of the calculation example is 0.520.

Samples with a mean OD higher than the negative reference sera are positive:

For example: positive patient

Patient sample extinction = 0.685

0.520 = 100 U/l

0.685 = X

$$X = \frac{0.685 * 100}{0.520} = 131.7 \text{ U/l}$$

Calculation is for the weight of 100 mg stool sample / 5 ml buffer (or 1:50 dilution in general).

11. LIMITATIONS

Samples with htTG-antibody-levels greater than the positive control should be diluted and re-assayed.

12. QUALITY CONTROL

Immundiagnostik recommends commercially control samples as internal quality control.

Control samples or stool pools should be analysed with each run of calibrators and patient samples. Results generated from the analysis of control samples, should be evaluated for plausibility using appropriate statistical methods. In assays in which one or more of the quality control sample values lie outside the acceptable range, the results for the patient sample may not be valid.

Expected values

htTG-antibodies in stool <100 U/l

13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision and reproducibility

The precision (intra-assay variation) of the Immundiagnostik anti-ht Transglutaminase-antibody-ELISA test was calculated from 20 replicate determinations on each of one samples.

Intra-Assay CV n= 20

Sample	htTG-Ab mean value [U/l]	Intra-Assay CV [%]
1	131.5	4,7
2	72.7	3.3

The total precision (inter-assay variation) of the Immundiagnostik anti-ht Transglutaminase-antibody-ELISA test was calculated from data on 2 samples obtained in 20 different assays by three technicians on two different lots of reagents over a period of three months.

Inter-Assay CV n= 20

Sample	htTG-Ab mean value [U/l]	Inter-Assay CV [%]
1	126.6	7.9
2	122.1	6.4

14. REFERENCES

1. Dieterich et al.: Identification of tissue transglutaminase as the autoantigen of celiac disease. (1997) NatMed 7(3)
2. Rieken et al.: Gewebetansglutaminase als Autoantigen bei der einheimischen Sprue. (1998) Dtsch.med.Wschr.123, 1454-1460
3. Green et al.: The Diagnosis of celiac disease 1998. (1998) Clinical Perspectives Gastroenterology.
4. Mothes: Zöliakie-Bedeutung von Transglutaminasen und Autoantikörpern. (1997) Münch.med. Wschr.139.

15. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE

- This assay was produced and put on the market according to the IVD guidelines of 98/79/EC.
- The test components which are made of human serum are tested for Australia antigen and HIV and found to be negative. However, since no test method can offer complete assurance that infectious agents are absent, these reagents should be handled as recommended as potentially infectious material. The normal precautions for laboratory working should be observed.
- Reagents of the test package contain sodium azide as a bactericide. Contact with skin or mucous membranes has to be avoided.
- All reagents in the test package should only used for in vitro diagnostics.
- The reagents should not be used after the date of expiry (see label on the test package).
- Single components with different lot numbers should not be mixed or exchanged.
- For quality control, the guidelines for medical laboratories should be observed.
- The characteristic test data, such as incubation time, incubation temperature and pipetting volumina of the different components are defined by the producer. Any variations of the test procedure, that are not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik can therefore not be held reliable for any damage resulting from this.

10/10/2005 30052005_TGA_sIgA.DOC