

anti-Gliadin IgA ELISA

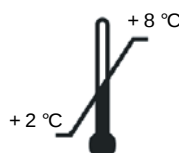
Zur in vitro Bestimmung der IgAanti- Gliadin Antikörper in Serum

For the in vitro determination of IgA anti-gliadin antibodies in serum

Gültig ab 09.07.2010



K 9310



Immundiagnostik AG, Stubenwald-Allee 8a, D 64625 Bensheim
Tel.: ++49 6251 70190-0
Fax: ++ 49 6251 849430
e.mail: Info@immundiagnostik.com
www.immundiagnostik.com

Inhaltsverzeichnis	Seite
1. VERWENDUNGSZWECK	4
2. EINLEITUNG	4
3. TESTPRINZIP	4
4. INHALT DER TESTPACKUNG	5
4. INHALT DER TESTPACKUNG	6
5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL	6
6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN	7
7. HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN	8
8. VORBEREITUNG DES PROBENMATERIALS	8
9. TESTDURCHFÜHRUNG	8
HINWEISE	8
PIPETTIERSHEMA	9
10. EINSCHRÄNKUNGEN	10
11. ERGEBNISSE	10
12. QUALITÄTSKONTROLLE	10
ERWARTETE ERGEBNISSE	10
13. TESTCHARAKTERISTIKA	11
PRÄZISION UND REPRODUZIERBARKEIT	11
14. TECHNISCHE MERKMALE	12
15. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST	12
16. LITERATUR	12

CONTENT	PAGE
1. INTENDED USE	15
2. INTRODUCTION	15
3. PRINCIPLE OF THE TEST	15
4. MATERIAL SUPPLIED	16
4. MATERIAL SUPPLIED	17
5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED	17
6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS	18
7. PRECAUTIONS	19
8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION	19
9. ASSAY PROCEDURE	19
PROCEDURAL NOTES	19
TEST PROCEDURE	20
10. LIMITATIONS	21
11. RESULTS	21
12. QUALITY CONTROL	21
EXPECTED VALUES	21
13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS	22
PRECISION AND REPRODUCIBILITY	22
14. TECHNICAL HINTS	23
15. GENERAL NOTES ON THE TEST AND TEST PROCEDURE	23
16. REFERENCES	23

1. VERWENDUNGSZWECK

Der hier beschriebene Enzyme-Linked-Immuno-Sorbent-Assay (ELISA) ist für die Bestimmung von IgA anti-Gliadin Antikörpern geeignet. Nur zur *in vitro* Diagnostik.

2. EINLEITUNG

Zöliakie (oder auch als einheimische Sprue bezeichnet) wird durch das Gluten des Getreides von Weizen, Roggen und Gerste hervorgerufen. Es handelt sich dabei um eine meist im Kindesalter manifestierte chronische Verdauungsinsuffizienz. Ferner wird die Zöliakie mit bösartig verlaufenden T-Zell-Lymphomen in Verbindung gebracht, welche bei 6 von 10 Spruepatienten auftreten.

Das frühzeitige Erkennen der Zöliakie ist entscheidend, da Folgeerscheinungen durch Einhaltung einer glutenfreien Ernährung verhindert werden können.

Durch die Bestimmung der **IgA anti-Gliadin** Antikörper wird der Patient nicht weiter belastet, da eine Biopsie - „Gold Standard“ - des Dünndarms bei der Verlaufkontrolle und dem Screening der Krankheit nicht zwingend notwendig ist.

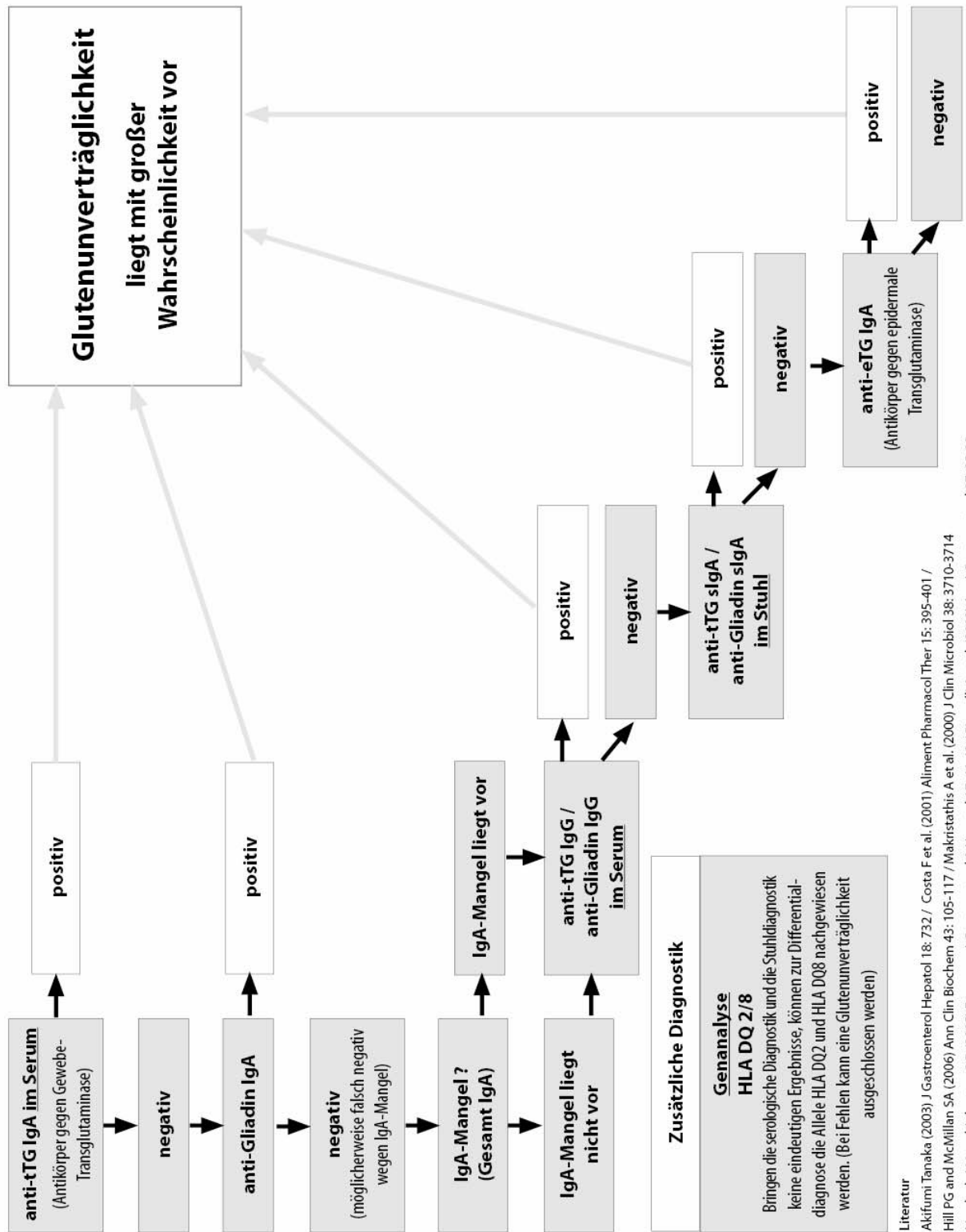
Indikation

- Autoimmunerkrankungen
- Nahrungsmittelunverträglichkeit
- Siehe auch unseren Vorschlag für Stufendiagnostik bei Verdacht auf Glutenunverträglichkeit auf Seite 5.

3. TESTPRINZIP

Das Antigen Gliadin ist auf einer Mikrotiterplatte fixiert. In der Probe vorhandene anti-Gliadin-Antikörper binden im ersten Inkubationsschritt an das Antigen. Nach einem Waschschrift wird der gebundene Antikörper durch einen Kaninchen anti-IgA peroxidase-markierten Antikörper quantitativ nachgewiesen. Als Peroxidasesubstrat wird Tetramethylbenzidin (TMB) eingesetzt. Die entstandene chromogene Verbindung wird photometrisch bei 450 nm gemessen. Die Intensität der Farbe ist dem IgA anti-Gliadin Antikörper-Gehalt direkt proportional. Parallel dazu wird eine Standardkurve – Optische Dichte (Absorption bei 450 nm) versus Standardkonzentration - erstellt, aus der die Konzentrationen der Proben ermittelt werden.

Unser Vorschlag zur Stufendiagnostik bei Verdacht auf Glutenunverträglichkeit (Laborbeitrag):



4. INHALT DER TESTPACKUNG

Artikel Nr.	Inhalt	Kit Komponenten	Menge
K 9310MTP	PLATE	Mikrotitermodul, vorbeschichtet	12 x 8 Vertiefungen
K 9310WP	WASHBUF	ELISA Waschpufferkonzentrat 10x	2 x 100 ml
K 9310K	CONJ	Konjugat, (Kaninchen anti-IgA, Peroxidase-markiert)	1 x 200 µl
K 9310ST	STD	Gliadin-Standard, lyophilisiert	4 x 6 vials
K 9310KO1	CTRL	Kontrolle, lyophilisiert	4 x 1 vial
K 9310KO2	CTRL	Kontrolle, lyophilisiert	4 x 1 vial
K 9310TMB	SUB	TMB Substrat (Tetramethylbenzidin), gebrauchsfertig	1 x 15 ml
K 9310AC	STOP	ELISA Stopplösung, gebrauchsfertig	1 x 15 ml

5. ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Bidestilliertes Wasser (aqua bidest.)
- Laborwaage
- Präzisionspipetten und Einmalpipettenspitzen mit variablen Volumina von 10 - 1000 µl
- Folie zum Abkleben der Mikrotiterplatte
- Mikrotiterplattenschüttler
- Multikanal- bzw. Multipipette
- Zentrifuge, 3000 x g
- Vortex-Mixer
- Laborübliche Glas- oder Plastikröhrchen (Einmalartikel)
- Mikrotiterplattenphotometer mit Filter 450 nm (Referenzfilter 620 oder 690 nm)

6. VORBEREITUNG UND LAGERUNG DER REAGENZIEN

- Bitte achten Sie bei mehrfachem Einsatz der Platte darauf, dass die Reagenzien, wie in der Vorschrift beschrieben, gelagert und **nur die für den jeweiligen Ansatz benötigten Reagenzienmengen frisch angesetzt werden**. Der Kit kann so bis zu 4 x je nach Probenauftreten bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendet werden.
- Reagenzien mit einem **Volumen kleiner 100 µl** sollten vor Gebrauch zentrifugiert werden um Volumenverluste zu vermeiden.
- Der **WASHBUF** (Waschpufferkonzentrat) muss vor Gebrauch **1:10** in bidestilliertem Wasser (aqua bidest.) verdünnt werden (100 ml WASHBUF + 900 ml aqua bidest.), gut mischen. Aufgrund der hohen Salzkonzentration in den Stammlösungen kann es zu Kristallbildungen kommen. Die Kristalle lösen sich im Wasserbad bei 37 °C auf. Das **Pufferkonzentrat** kann bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum aufbewahrt werden. Die **verdünnte Pufferlösung** ist bei **2-8 °C einen Monat** in einem geschlossenen Gefäß haltbar.
- Das **CONJ** (Konjugat, peroxidase-markiert) wird **1:101** in Waschpuffer verdünnt (100 µl CONJ + 10 ml Waschpuffer). Das **unverdünnte CONJ** ist bei **2-8°C** bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum stabil. Die **verdünnte Konjugatlösung kann nicht aufbewahrt werden**.
- Die **lyophilisierten STD** (Standards) und **CTRL** (Kontrollen) sind bei 2-8°C bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. Die Standards und Kontrollen werden mit jeweils 500 µl bidestilliertem Wasser (aqua bidest.) rekonstituiert und zum Lösen 10 Minuten stehen gelassen. **Rekonstituierte Standards und Kontrollen können nicht gelagert und weiter verwendet werden**.
- Alle Testreagenzien sind bei 2-8°C zu lagern und bei entsprechender Lagerung bis zum angegebenen Verfallsdatum (siehe Etikett) verwendbar.

7. HINWEISE UND VORSICHTSMASSNAHMEN

- Nur zur *in vitro* Diagnostik.
- Qualitätskontrollen sollten immer mit gemessen werden.
- Das für Kitkomponenten verwendete humane Material wurde auf HIV, Hepatitis B und Hepatitis C getestet und für negativ befundet. Dennoch wird empfohlen, die Kitkomponenten immer wie potentiell infektiöses Material zu behandeln.
- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure (H_2SO_4). H_2SO_4 ist eine starke Säure und muss auch in verdünnter Form mit Vorsicht verwendet werden. H_2SO_4 verursacht bei Kontakt mit der Haut Verätzungen. Es sollte daher mit Schutzhandschuhen, Schutzkleidung und Schutzbrille gearbeitet werden. Bei Kontakt mit der Schwefelsäure muss die verätzte Stelle sofort mit viel Wasser gespült werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.

8. VORBEREITUNG DES PROBENMATERIALS

Serum

Serum wird **1:250** mit Waschpuffer in 2 Schritten verdünnt.

Beispiel:

Verdünnungsschritt 1: 10 µl Serum + 90 µl Waschpuffer

Verdünnungsschritt 2: 40 µl Verdünnung 1 + 960 µl Waschpuffer

9. TESTDURCHFÜHRUNG

Hinweise

- Reagenzien der Testpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Qualitätskontrollen sollten immer mit gemessen werden.
- Inkubationszeit, Temperatur und Pipettiervolumina sind vom Hersteller festgelegt. Jegliche Abweichung der Testvorschrift, die nicht mit dem Hersteller koordiniert wurde, kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Immundiagnostik AG übernimmt hierfür keine Haftung.
- Der Assay ist immer nach der im Kit beigefügten Arbeitsanleitung abzuarbeiten.

Pipettierschema

Die vorbeschichtete Mikrotiterplatte **vor Gebrauch 5 x mit 250 µl** Waschpuffer waschen.

Die Bestimmungen sind in der Mikrotiterplatte in Doppelwerten durchzuführen.

1. **100 µl STD** (Standards), **CTRL** (Kontrollen) und **vorbereitete Proben** pro Vertiefung pipettieren.
2. **1 Stunde** bei Raumtemperatur unter Schütteln inkubieren.
3. Den Inhalt der Platte verwerfen und **5x mit je 250 µl** Waschpuffer waschen. Mikrotiterplatte nach dem letzten Waschgang auf Saugpapier ausschlagen.
4. **100 µl verdünntes CONJ** (Konjugat, Peroxidase-markiert) 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 SUB** (TMB-Substratlösung) pro Vertiefung pipettieren.
8. **10 – 15 Minuten** bei Raumtemperatur inkubieren.
9. **50 µl STOP** (Stopplösung) pro Vertiefung zusetzen und kurz mischen.
10. Extinktion **sofort** im Mikrotiterplattenphotometer bei **450 nm** gegen die Referenzwellenlänge 620 nm (oder 690 nm) messen. Sollte die Extinktion des höchsten Standards den Messbereich des Photometers übersteigen, sofort bei 405 nm gegen 620 nm (690 nm) messen.

10. EINSCHRÄNKUNGEN

Proben mit IgA anti-Gliadin-Antikörper-Konzentration höher als der höchste Standard, werden mit Waschpuffer weiter verdünnt und nochmals im Assay eingesetzt.

11. ERGEBNISSE

Berechnung

Da die Probenverdünnung (1:250) in der Standardkurve bereits berücksichtigt wurde, ist der Verdünnungsfaktor gleich 1.

Falls die Proben anders als angegeben verdünnt werden, muss der Verdünnungsfaktor bei der Auswertung gesondert berechnet werden, z. B. bei einer Verdünnung von 1:1000 müssen die ermittelten Messwerte mit 4 multipliziert werden.

12. QUALITÄTSKONTROLLE

Wir empfehlen Kontrollen 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 Probenergebnisse nicht gewährleisten.

Erwartete Ergebnisse

Vorläufiger Normwert

Serum: > 22 AU/ml, positiv

Serum: < 16 AU/ml, negativ

Serumwerte zwischen 16 und 22 AU/ml liegen im Graubereich.

Wir empfehlen jedem Labor einen eigenen Normwertbereich zu etablieren.

13. TESTCHARAKTERISTIKA

Präzision und Reproduzierbarkeit

Intra-Assay-Variation

Die Reproduzierbarkeit von einer Probe innerhalb einer Messserie wurde geprüft. Die Probe wurden 64-mal von einer Person angesetzt und gemessen.

Intra-Assay VK n= 64

Probe	IgA anti-Gliadin Mittelwert [AU/ml]	Intra-Assay Vk [%]
1	133,41	4,9

Inter-Assay-Variation

Die Reproduzierbarkeit von zwei Proben wurde an unterschiedlichen Tagen von verschiedenen Personen geprüft. Die Proben wurden 17-mal gemessen.

Inter-Assay VK n= 17

Probe	IgA anti-Gliadin Mittelwert [AU/ml]	Inter-Assay Vk [%]
1	133,53	7,8
2	5,04	18,4

14. TECHNISCHE MERKMALE

- Reagenzien der Kitpackung dürfen nicht mit anderen Chargen gemischt werden.
- Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums nicht mehr verwendet werden.
- Substratlösung muss vor Gebrauch farblos sein.
- Mikrotiterstreifen müssen während den Inkubationen mit Folie abgedeckt sein.
- Schaumbildung beim Mischen der Reagenzien soll vermieden werden.
- Die Bestimmung ist immer nach der im Kit beigefügten Arbeitsanleitung durchzuführen.

15. ALLGEMEINE HINWEISE ZUM TEST

- Dieser Kit wurde nach der IVD Richtlinie 98/79/EG hergestellt und in den Verkehr gebracht.
- Alle im Kit enthaltenen Reagenzien dürfen nur zur *in vitro* Diagnostik verwendet werden.
- Für die Qualitätskontrolle sind die für medizinische Laboratorien erstellten Richtlinien zu beachten.
- Die Testcharakteristika wie Inkubationszeiten, Inkubationstemperaturen und Pipettiervolumina der verschiedenen Komponenten wurden vom Hersteller festgelegt. Nicht mit dem Hersteller abgesprochene Veränderungen in der Testdurchführung können die Resultate beeinflussen. 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.

16. LITERATUR

1. Dieterich et al., 1997; Nat. Med. 7 (3), 797
2. Rieken et al., 1998; Dtsch. med. Wschr. 123, 1454
3. Green et al., 1998; Clin. Persp. Gastroenterol., November, 133
4. Mothes, Th., 1997; Münsch. Med. Wschr. 139, 111
5. Sardy et al., 1999; Clin. Chem 45, 2142

Verwendete Symbole:

Temperaturbegrenzung



In-Vitro-Diagnostikum



Hersteller



Chargenbezeichnung



Bestellnummer

Inhalt ausreichend für <n>
Prüfungen

Verwendbar bis

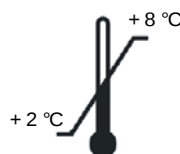
anti-Gliadin IgA ELISA

For the in vitro determination of IgA anti-gliadin antibodies in serum

Valid from 09.07.2010



K 9310



1. INTENDED USE

The *Immundiagnostik* Assay is intended for the determination of **IgA anti-gliadin antibodies** in serum. It is for *in vitro* diagnostic use only.

2. INTRODUCTION

Celiac disease (CD), also known as gluten sensitive enteropathy (GSE) or celiac sprue, is an immune-mediated disease, triggered by gluten proteins in wheat, rye and barley. It is mainly manifested as chronic intestinal malabsorption during childhood. Celiac disease is particularly associated with T cell lymphomas of the small intestine, which occur in 6 of 10 celiac sprue patients. Thus, early diagnosis of celiac disease is important, as people can avoid long-term health complications of celiac disease by following a gluten-free diet.

The determination of IgA anti-gliadin antibodies is a sensitive tool for screening, therapy control and monitoring remission of celiac disease along with distal duodenal biopsies, the gold standard for diagnosis.

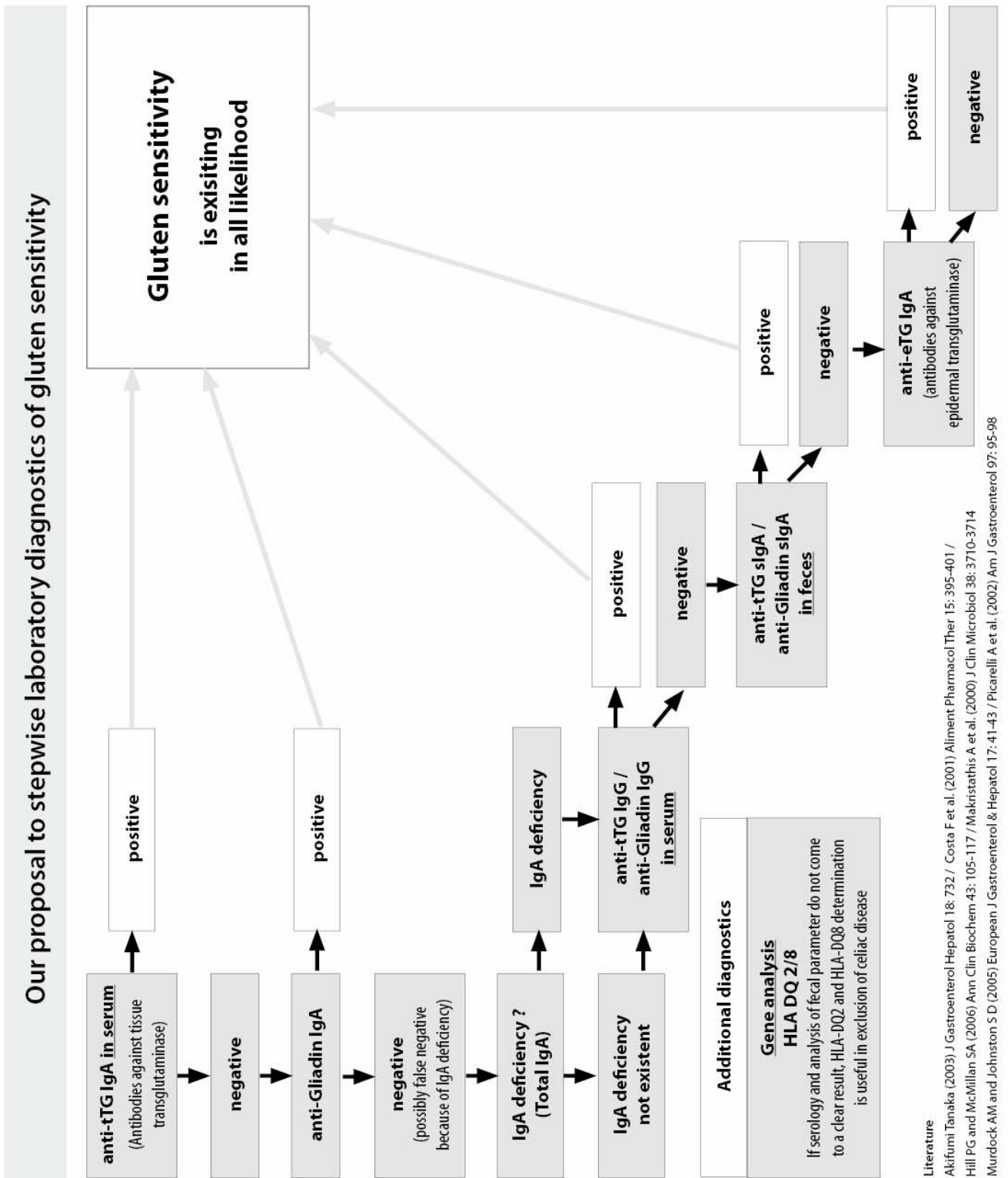
Indication

- Auto immune-mediated diseases
- Food intolerance
- See our proposal for stepwise diagnosis of gluten sensitivity on page 16.

3. PRINCIPLE OF THE TEST

The wells of the microtiter plate are coated with the antigen gliadin. In a first incubation step, the anti-gliadin antibodies are bound to the coated antigen. To remove all unbound substances, a washing step is carried out.

In a further incubation step, a peroxidase-labeled rabbit IgA anti-gliadin antibody is added. After another washing step to remove all unbound substances, the solid phase is incubated with the peroxidase substrate, tetramethylbenzidine (TMB). Finally, an acidic stop solution is added to terminate the enzymatic reaction, whereby the colour changes from blue to yellow. The intensity of the yellow colour is directly proportional to the IgA anti-gliadin antibody concentration. A dose response curve of the absorbance unit (optical density, OD at 450 nm) vs. concentration is generated, using the values obtained from the standards. IgA anti-gliadin antibodies present in the samples are determined directly from this curve.



4. MATERIAL SUPPLIED

Cat. No	Content	Kit Components	Quantity
K 9310MTP	PLATE	One holder with pre-coated strips	8 x 12 wells
K 9310WP	WASHBUF	ELISA wash buffer concentrate 10x	2 x 100 ml
K 9310K	CONJ	Conjugate (rabbit-anti-IgA antibody, peroxidase labeled)	1 x 200 µl
K 9310ST	STD	Gliadin Standards, lyophilized	4 x 6 vials
K 9310KO1	CTRL	Control, lyophilized	4 x 1 vial
K 9310KO2	CTRL	Control, lyophilized	4 x 1 vial
K 9310TMB	SUB	TMB substrate (Tetramethylbenzidine), ready-to-use	1 x 15 ml
K 9310AC	STOP	ELISA stop solution, ready-to-use	1 x 15 ml

5. MATERIAL REQUIRED BUT NOT SUPPLIED

- Bidistilled water (aqua bidest.)
- Laboratory balance
- Precision pipettors calibrated and tips to deliver 10-1000 µl
- Covering foil for the microtiter plate
- Horizontal microtiter plate shaker
- A multi-channel dispenser or repeating dispenser
- Centrifuge capable of 3000 x g
- Vortex-Mixer
- Standard laboratory glass or plastic vials, cups, etc.
- Microtiter plate reader at 450 nm (reference wave length 620 or 690 nm)

6. PREPARATION AND STORAGE OF REAGENTS

- To run assay more than once, ensure that reagents are stored at conditions stated on the label. **Prepare only the appropriate amount necessary for each assay.** The kit can be used up to 4 times within the expiry date stated on the label.
- Reagents with a **volume less than 100 µl** should be centrifuged before use to avoid loss of volume.
- The **WASHBUF** (wash buffer concentrate) should be diluted with aqua bidest. **1:10** before use (100 ml WASHBUF + 900 ml aqua bidest.), mix well. Crystals could occur due to high salt concentration in the stock solutions. The crystals must be re-dissolved at 37°C in a water bath before dilution of the buffer solutions. The **buffer concentrate** is stable at **2-8°C** until the expiry date stated on the label. Diluted **buffer solution** can be stored in a closed flask at **2-8°C for one month.**
- The **CONJ** (conjugate, peroxidase-labeled) must be diluted **1:101** in wash buffer (100 µl CONJ + 10 ml wash buffer). The **undiluted conjugate** is stable at **2-8 °C** until the expiry date stated on the label. **Diluted conjugate is not stable and can not be stored.**
- The lyophilized **STD** (standards) and **CTRL** (controls) are stable at **2-8 °C** until expiry date stated on the label. Each of the lyophilized standards and controls must be reconstituted with **500 µl of bidistilled water** (aqua bidest.). Allow the vial content to dissolve for 10 minutes at room temperature, and mix thoroughly by gentle inversion to insure complete reconstitution. **Diluted standards and controls are not stable and can not be stored.**
- All other test reagents are ready to use. The test reagents are stable until the expiry date (see label of test package) when stored at **2-8°C.**

7. PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Quality control guidelines should be followed.
- Human materials used in kit components were tested and found to be negative for HIV, Hepatitis B and Hepatitis C. However, for safety reasons, all kit components should be treated as potentially infectious.
- Stop solution is composed of sulfuric acid, which is a strong acid. Even diluted, it still must be handled with care. It can cause acid burns and should be handled with gloves, eye protection, and appropriate protective clothing. Any spills should be wiped out immediately with copious quantities of water.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on the kit label.

8. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

Serum/Plasma

Serum must be diluted **1:250** in ELISA wash buffer in two steps.

For example:

Dilution step 1: 10 µl serum + 90 µl wash buffer

Dilution step 2: 40 µl dilution 1 + 960 µl wash buffer

9. ASSAY PROCEDURE

Procedural notes

- Do not mix different lot numbers of any kit component.
- Quality control guidelines should be followed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from wrong use.
- The assay should always be performed according the enclosed manual.

Test procedure

Wash the pre-coated microtiter plate **5 x with 250 µl** of wash buffer before use. Carry out the tests in duplicate.

1. Add **100 µl** of **STD** (standards), **CTRL** (controls) and **diluted 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 **5x with 250 µl** of diluted wash buffer. After the last wash, remove remaining wash buffer by hitting the plate against paper towel.
4. Add **100 µl** of diluted **CONJ** (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 **5x with 250 µl** of diluted wash buffer. After the last wash, remove remaining wash buffer by hitting the plate against paper towel.
7. Add **100 µl** of **SUB** (TMB substrate).
8. Incubate for **10 - 15 minutes** at room temperature.
9. Add **50 µl** of **STOP** (ELISA 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. LIMITATIONS

Samples with IgA anti-gliadin levels higher than the highest standard should be further diluted with wash buffer and re-assayed.

11. RESULTS

Calculation

Since the sample dilution of 1:250 is already considered in the calibration curve, the dilution factor is 1.

If a sample dilution different from 1:250 has been used, a corresponding dilution factor must be considered, e.g., at a dilution of 1000 the results must be multiplied by 4.

12. QUALITY CONTROL

Controls should be analyzed with each run. Results, generated from the analysis of controls, should be evaluated for acceptability using appropriate statistical methods. The results for the patient samples may not be valid, if within the same assay one or more values of the quality controls are outside the acceptable limits.

Expected values

Preliminary normal value

Serum > 22 AU/ml positive

Serum < 16 AU/ml negative

Results between 16 - 22 AU/ml are in the grey range.

We recommend each laboratory to establish its own normal range.

13. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Precision and reproducibility

Intra-Assay-Variation

The intra-assay variation of the assay was calculated from 64 determinations of one sample by one person.

Intra-Assay CV n = 64

Sample	IgA anti-gliadin mean value [AU/ml]	Intra-Assay CV [%]
1	133,41	4,9

Inter-Assay-Variation

The inter-assay variation of the assay was calculated from data on 2 samples obtained in 17 determinations by different persons on different days.

Inter-Assay CV n = 17

Sample	IgA anti-gliadin mean value [AU/ml]	Inter-Assay CV [%]
1	133,53	7,8
2	5,04	18,4

14. TECHNICAL HINTS

- Do not interchange different lot numbers of any kit component within the same assay.
- Reagents should not be used beyond the expiration date shown on the kit label.
- Substrate solution should remain colourless until use.
- To ensure accurate results, proper adhesion of plate sealers during incubation steps is necessary.
- Avoid foaming when mixing reagents.
- The assay should always be performed according the enclosed manual.

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.
- All reagents in the kit package are for *in-vitro* diagnostics only.
- The guidelines for medical laboratories should be observed.
- Incubation time, incubation temperature and pipetting volumes of the components are defined by the producer. Any variation of the test procedure, which is not coordinated with the producer, may influence the results of the test. Immundiagnostik AG can therefore not be held responsible for any damage resulting from wrong use.
- Warranty claims and complaints in respect of deficiencies must be lodged within 14 days after receipt of the product. The product shall be send to Immundiagnostik AG together with a written complaint.

16. REFERENCES

1. Dieterich et al., 1997; Nat. Med. 7 (3), 797
2. Rieken et al., 1998; Dtsch. med. Wschr. 123, 1454
3. Green et al., 1998; Clin. Persp. Gastroenterol., November, 133
4. Mothes, Th., 1997; Münsch. Med. Wschr. 139, 111
5. Sardy et al., 1999; Clin. Chem 45, 2142

Used symbols:

Temperature limitation



Catalogue Number



In Vitro Diagnostic Medical Device



Contains sufficient for <n> tests



Manufacturer



Use by



Lot number