

RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin

REF G09034



1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. RIDASCREEN® α_1 -antitrypsin es un inmunoensayo para la determinación cuantitativa de α_1 -antitripsina en muestras de heces.

2. Resumen y descripción del ensayo

Las proteínas son componentes fundamentales de los alimentos y constituyentes esenciales del cuerpo. El cuerpo debe ser capaz de procesar proteínas, es decir, sintetizar y degradar las proteínas en función de las necesidades.

Las enzimas proteolíticas, como la tripsina y la quimotripsina, ayudan a degradar proteínas. Estas enzimas no solo digieren alimentos, sino que ayudan también a combatir infecciones bacterianas y enfermedades inflamatorias del tracto gastrointestinal. Los inhibidores proteolíticos se encargan de detener la acción de las enzimas proteolíticas antes de que destruyan tejidos sanos. Uno de los inhibidores más importantes es la α_1 -antitripsina (también conocido como α_1 -inhibidor de proteinasa), una glicoproteína con un peso molecular de 50 kilodaltons (kDA). La proteína es un inhibidor primario que forma complejos reversibles con proteasas séricas como la elastasa de los neutrófilos polimorfonucleares (PMN), tripsina, quimotripsina y células inflamatorias activas del sistema inmunitario.

En consecuencia, la α_1 -antitripsina tiene un importante efecto regulador de los procesos inflamatorios, sobre todo al inhibir la elastasa PMN, una proteasa liberada por los leucocitos. El cuerpo libera elastasa PMN en respuesta a estímulos inflamatorios. Como regulador de la actividad de las proteasas, α_1 -antitripsina se encarga de que los efectos de la elastasa PMN se circunscriban a la inflamación y de proteger a los tejidos sanos contra la degradación proteolítica. Esto hace que el inhibidor sea un indicador valioso de la actividad de enfermedades intestinales inflamatorias crónicas. Los pacientes con enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa y otros trastornos intestinales, como pólipos, cáncer de colon, diverticulitis, enfermedad celiaca o alergias alimentarias graves presentan niveles de α_1 -antitripsina drásticamente elevados. La α_1 -antitripsina se utiliza asimismo como marcador fecal de pérdida de proteínas intestinales y aumento de la permeabilidad de la mucosa en pacientes con mucosa intestinal dañada.

En general, se considera que la α_1 -antitripsina se sintetiza principalmente en el hígado y en las células intestinales y se excreta con las heces sin fragmentación trípica o resorción. En consecuencia, no experimenta degradación en el intestino y es, por tanto, idónea como marcador fecal.

3. Principio del ensayo

En RIDASCREEN® α_1 -antitrypsin se utiliza un método de sándwich para identificar anticuerpos específicos. La superficie del pocillo de la placa de microtitulación se recubre con anticuerpos específicos contra epítomos de α_1 -antitripsina humana. Se pipetea una suspensión de la muestra de heces objeto del ensayo en un pocillo de la placa de microtitulación y se incuba. Enseguida se lava la placa y se incuba por segunda vez con un anticuerpo policlonal anti- α_1 -antitripsina conjugado con peroxidasa de rábano picante. Si la muestra contiene α_1 -antitripsina, se forma un complejo tipo sándwich compuesto por el anticuerpo inmovilizado, el antígeno de la α_1 -antitripsina y el anticuerpo conjugado. Los anticuerpos marcados con enzima no unidos se eliminan durante el siguiente paso de lavado. En las muestras positivas, la adición de un substrato hace que la enzima unida cambie la coloración de la solución de incolora a azul en los pocillos de la placa de microtitulación. La adición de un reactivo de parada provoca que la coloración cambie de azul a amarillo. La extinción es proporcional a la concentración de α_1 - antitripsina presente en la muestra.

4. Reactivos suministrados

Los reactivos del kit son suficientes para 96 determinaciones.

Plate	96 ensayos	Placa de microtitulación, 12 tiras de microtitulación (desprendibles) en un portatiras; recubiertas con anticuerpos policlonales (de conejo) contra α_1 -antitripsina humana
Extract 10x	100 ml	Búfer de extracción y dilución (para extracción y dilución inicial de muestras de heces); solución de NaCl tamponada con fosfato; contiene NaN ₃ al 0,1 %; concentrado 10x
Diluent 3	100 ml	Búfer de dilución de muestras 3 (para dilución final), solución de NaCl tamponada con proteínas; contiene NaN ₃ al 0,1 %; listo para usar; color rojo
Wash buffer	100 ml	Búfer de lavado 10x (concentración 10x); solución de NaCl tamponada con fosfato; contiene timerosal al 0,1 %
Calibrator	1 ml	Calibrador; contiene NaN ₃ al 0,1 %; listo para usar
Control +	1 ml	Control positivo, contiene NaN ₃ al 0,1 %; listo para usar
Low control +	1 ml	Control positivo bajo; contiene NaN ₃ al 0,1 %; listo para usar
Conjugate	12 ml	Anticuerpo monoclonal (de conejo) conjugado con peroxidasa contra α_1 -antitripsina humana en solución proteica estabilizada; listo para usar
SeroSC	12 ml	Substrato; peróxido de hidrógeno/tetrametilbenzidina (TMB); listo para usar
Stop	12 ml	Reactivo de parada, ácido sulfúrico 1 N; listo para usar

Las sustancias peligrosas se indican de acuerdo a las obligaciones de etiquetado. Para obtener más información, consulte la hoja de datos de seguridad (SDS) en www.r-biopharm.com.

5. Instrucciones de almacenamiento

Todos los reactivos se deben almacenar a 2 - 8 °C y pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta. El búfer de lavado y el búfer de extracción diluidos se pueden utilizar hasta 4 semanas como máximo si se conservan a 2 - 8 °C. Evite la contaminación microbiana. Después de la fecha de caducidad, la garantía de calidad ya no es válida. Abra la bolsa de aluminio con tijeras, sin que se separe el precinto de seguridad. Las tiras de micropocillos que no vayan a utilizarse se deben sellar inmediatamente en la bolsa de aluminio y almacenarse a 2 - 8 °C. El sustrato incoloro también se debe proteger de la luz directa para evitar que se descomponga o se vuelva azul debido a la autooxidación. No utilice el sustrato si ha virado a color azul.

6. Reactivos necesarios no suministrados

6.1. Reactivos

- Agua destilada o desionizada

6.2. Equipo

- Viales de muestras
- Mezclador de vórtice (opcional, consulte 9.4.)
- Micropipeta de 50-100 µl y 1 ml
- Probeta graduada (1000 ml)
- Cronómetro
- Dispositivo de lavado de placas de microtitulación o pipetas multicanal (300 µl)
- Fotómetro para placas de microtitulación (450 nm, filtro de referencia de 620 nm)
- Papel de filtro (toallitas de laboratorio)
- Recipiente para residuos de laboratorio con solución de hipoclorito al 0,5 %

7. Advertencias y precauciones para los usuarios

Exclusivamente para el diagnóstico *in vitro*.

Esta prueba solo debe llevarla a cabo personal de laboratorio capacitado. Se deben respetar las directrices para el trabajo en laboratorios médicos. Respete siempre las instrucciones de uso al llevar a cabo este ensayo. No pipetee muestras ni reactivos con la boca. Evite el contacto con piel herida o membranas mucosas. Lleve equipo de protección personal (guantes apropiados, bata de laboratorio, gafas de protección) al manipular los reactivos y las muestras y lávese las manos después de finalizar el ensayo. No fume, coma ni beba en las zonas en que se manipulen las muestras.

Para obtener información más detallada, consulte las hojas de datos de seguridad (SDS) en www.r-biopharm.com.

El calibrador, el control positivo y el control positivo bajo contienen componentes de sangre humana negativos para la infección por VIH, VHC y HBsAg. No obstante, tanto estos componentes como las muestras fecales se deben tratar como potencialmente infecciosos y manejarse de acuerdo con lo establecido en las normativas de seguridad nacionales.

El búfer de lavado contiene timerosal al 0,1 % como conservador. Esta sustancia no debe entrar en contacto con la piel ni con las membranas mucosas.

El calibrador, el control positivo, el control positivo bajo, el búfer de extracción y de dilución de muestras contienen NaN_3 al 0,1 %. Esta sustancia no debe entrar en contacto con la piel ni con las membranas mucosas.

El peróxido de hidrógeno (TMB) puede causar quemaduras. Manipule con cuidado.

El reactivo de parada contiene ácido sulfúrico 1 N. Evite el contacto con la piel y la ropa. Si el reactivo entra en contacto con la piel, lave con agua.

Todos los reactivos y materiales que entren en contacto con muestras potencialmente infecciosas deben tratarse con desinfectantes adecuados o esterilizarse en autoclave a 121 °C durante una hora como mínimo.

PRECAUCIÓN: Con el fin de evitar la formación de gases tóxicos, todos los residuos líquidos que contengan reactivo de parada se deben neutralizar antes de añadirlos a la solución de hipoclorito.

Los usuarios son responsables de desechar todos los reactivos y materiales usados de manera adecuada. Respete la normativa nacional en materia de eliminación de residuos.

8. Obtención y almacenamiento de muestras

Hasta que se use, almacene el material del ensayo a 2 - 8 °C. Si el material no puede usarse en ensayos en un plazo de tres días, se recomienda almacenarlo a - 20 °C o más frío. No congele y descongele la muestra repetidamente. Las muestras de heces y los frotis rectales no deben recogerse en recipientes de transporte que contengan medios de transporte con conservantes, suero animal, iones metálicos, agentes oxidantes o detergentes, ya que dichas sustancias pueden interferir con el ensayo RIDASCREEN® α_1 -antitrypsin.

9. Ejecución de la prueba

9.1. Información general

Todos los reactivos y la placa de microtitulación Plate deben alcanzar la temperatura ambiente (20 - 25 °C) antes de usarlos. Una vez que hayan alcanzado la temperatura ambiente, extraiga las tiras de microtitulación de la bolsa de aluminio. Mezcle bien los reactivos inmediatamente antes de usarlos. Después del uso, las tiras de microtitulación (colocadas en bolsas selladas) y los reactivos deben

almacenarse de nuevo a 2-8 °C. Una vez usadas, las tiras de microtitulación no pueden volver a usarse. No utilice reactivos ni tiras de microtitulación si el envase está dañado o los recipientes no están cerrados herméticamente. Para evitar la contaminación cruzada, las muestras no deben entrar en contacto directo con los componentes del kit.

No realice el ensayo bajo la luz solar directa. Se recomienda cubrir la placa de microtitulación o sellarla con un envoltorio plástico para evitar pérdidas por evaporación.

Nota: El calibrador y el control positivo se deben agregar en cada ensayo. El uso del control positivo bajo es opcional.

9.2. Preparación del búfer de lavado

Mezcle 1 parte de concentrado de búfer de lavado **Wash 10x** con 9 partes de agua destilada. Caliente previamente el concentrado (baño maría a 37 °C) para disolver los posibles cristales presentes.

9.3. Preparación del búfer de extracción

Mezcle 1 parte del búfer de extracción **Extract 10x** con 9 partes de agua destilada (1:10). Caliente previamente el concentrado (baño maría a 37 °C) para disolver los posibles cristales presentes.

9.4. Preparación de muestras

9.4.1. Pesaje y suspensión de muestras

Pese exactamente 100 mg de muestra de heces en un tubo de ensayo etiquetado y, a continuación, añada exactamente 5 ml de búfer de extracción diluido con una pipeta (dilución 1:50).

Alternativamente, introduzca 80 a 130 mg de heces en el tubo de ensayo y suspenda en un volumen proporcionalmente menor o mayor de búfer de extracción diluido (consulte la tabla 1) para mantener constante la relación de dilución.

Tabla 1: volumen requerido de búfer de extracción diluido en función del peso de la muestra de heces

Peso de la muestra [mg]	Volumen [ml]
80	4,00
85	4,25
90	4,50
95	4,75
100	5,00
105	5,25
110	5,50

Peso de la muestra [mg]	Volumen [ml]
115	5,75
120	6,00
125	6,25
130	6,50

La suspensión de heces se homogeneiza a conciencia mezclándola con un mezclador de vórtice, independientemente del método utilizado para pesar la muestra de heces. Si las heces están en forma líquida, utilice una pipeta para extraer exactamente 100 µl y suspéndalos en exactamente 5 ml de búfer de extracción diluido.

Enseguida, la suspensión homogeneizada se debe centrifugar durante 10 minutos a por lo menos 3000 g para que se asienten las partículas de heces gruesas.

9.4.2. Dilución manual de muestras

Diluya 50 µl del sobrenadante clarificado en 950 µl de búfer de extracción diluido (1:20) y homogeneice la muestra en el mezclador de vórtice. Para la dilución final de la muestra, diluya 50 µl de la primera dilución con 950 µl de búfer de dilución de muestras de RIDASCREEN® **Diluent | 3** (1:20), y homogeneice en el mezclador de vórtice. En el ensayo se utilizará la dilución final de la muestra de heces (consulte 9.5.).

9.4.3. Dilución automática de muestras

Si el ensayo se realiza en un sistema automático para ELISA DSX de Dynex, use los siguientes pasos de dilución de las muestras. Para la dilución automática de muestras se necesita también un sobrenadante libre de partículas, igual que en la dilución manual. Para obtener las instrucciones sobre otros sistemas de pipeteado automático para ELISA, póngase en contacto con R-Biopharm AG.

El sistema automático para ELISA pipetea 25 µl de sobrenadante en una placa de pocillos profundos, el cual se diluye con 975 µl de búfer de extracción diluido (1:40). Siguen dos ciclos de mezclado.

El número requerido de tiras de microtitulación se coloca en el portatiras de la placa de microtitulación **Plate** de RIDASCREEN® α1-antitrypsin.

Transfiera 10 µl de la dilución de muestra de la placa de pocillos profundos en la placa de microtitulación **Plate** RIDASCREEN® α1-antitrypsin y diluya adicionalmente con 90 µl del búfer de dilución de muestras RIDASCREEN® **Diluent | 3** (1:10).

9.5. Primera incubación

Después de colocar un número suficiente de pocillos en el soporte, añada 100 µl de calibrador **Calibrator** (por duplicado), 100 µl del búfer de dilución de muestras **Diluent | 3** (= control negativo), 100 µl de control positivo **Control | +** y 100 µl de la dilución de muestras de heces final en los

pocillos correspondientes. De ser necesario, pueden agregarse 100 µl de control positivo bajo **Low control | +**. A continuación, incube la placa durante una (1) hora a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.6. Primer lavado

Es fundamental realizar un lavado exhaustivo si se quieren obtener resultados correctos y, en consecuencia, se deben respetar rigurosamente los pasos de lavado especificados en las instrucciones. Vacíe las sustancias incubadas en los pocillos en un recipiente de residuos que contenga hipoclorito para su desinfección.

A continuación, golpee la placa sobre papel absorbente para eliminar la humedad residual. Después, lave la placa 5 veces con 300 µl de búfer de lavado cada vez.

Después de cada paso de lavado, sacuda los pocillos sobre una pieza de papel absorbente seco y limpio para verificar que estén completamente vacíos.

Si se utiliza un equipo de limpieza de microplacas, asegúrese de que la máquina esté ajustada correctamente para el tipo de placa de microtitulación utilizado.

Además, una suspensión de heces que presente partículas antes del primer lavado deberá eliminarse manualmente mediante centrifugado para evitar que se bloqueen las boquillas de lavado. Verifique asimismo que se haya aspirado completamente el líquido en cada paso de lavado. Tras el último paso de lavado, golpee la placa minuciosamente sobre papel absorbente seco o toallitas desechables para eliminar cualquier resto de humedad.

9.7. Segunda incubación

Agregue 100 µl de conjugado **Conjugate** a cada pocillo. A continuación, incube la placa durante una (1) hora a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

9.8. Segundo lavado

Una vez transcurrido el tiempo de incubación, lave nuevamente la placa 5 veces con 300 µl de búfer de lavado cada vez. Después de cada lavado, sacuda los pocillos sobre una pieza de papel absorbente seco y limpio para verificar que estén completamente vacíos.

9.9. Tercera incubación

Agregue 100 µl de sustrato **SeroSC** a cada pocillo. Enseguida, incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25 °C) durante 15 minutos en la cámara oscura.

Después, pare la reacción agregando 50 µl de reactivo de parada **Stop** a cada pocillo. Tras mezclar con cuidado (golpeando ligeramente en el lado de la placa), mida la absorbancia a 450 nm y a una longitud de onda de referencia de 620 nm.

Nota: En las muestras de pacientes con positivo alto pueden formarse precipitados de sustrato de color negro.

10. Control de calidad: indicación del deterioro de los reactivos

A efectos de control de calidad, se debe utilizar el calibrador (por duplicado), los controles positivos y posiblemente los controles positivos bajos cada vez que se realice el ensayo, a fin de garantizar que los reactivos sean estables y que el ensayo se realice correctamente. El ensayo se habrá realizado correctamente si los controles se encuentran dentro de los rangos indicados en la hoja de datos del lote específico que se suministra con el kit.

Si no se alcanzan los valores especificados, deben comprobarse los siguientes puntos antes de repetir el ensayo:

- Fecha de caducidad de los reactivos utilizados
- Desempeño funcional de los equipos utilizados (p. ej., calibración)
- Ejecución correcta de la prueba
- Control visual de los componentes del kit para detectar contaminación o pérdidas. No deben usarse soluciones de sustrato que hayan virado a color azul.

Si las condiciones siguen sin cumplirse después de repetir el ensayo, consulte al fabricante o al distribuidor local de R-Biopharm.

11. Evaluación e interpretación

11.1. Cuantificación de punto único según el modelo log-logístico de 4 parámetros

En el ensayo de ELISA RIDASCREEN® α_1 -antitrypsin se usa un modelo log-logístico de 4 parámetros (4PL) para determinar la concentración de α_1 -antitripsina en heces en unidades de $\mu\text{g/g}$.

Es necesario disponer del software de evaluación RIDA®SOFT Win.NET para calcular los resultados. El software RIDA®SOFT Win o las actualizaciones se pueden obtener poniéndose en contacto con R-Biopharm AG o con el distribuidor local de R-Biopharm.

Los parámetros (A-D) necesarios para el cálculo 4PL de la curva estándar y del valor objetivo para el calibrador, el control positivo y el control positivo-bajo se pueden encontrar en la hoja de datos específica del lote incluida con el kit del ensayo, y se deben comparar con los valores del software de evaluación antes de la medición.

En el control de calidad final, R-Biopharm AG calcula la curva estándar (incluidos los parámetros A-D) en las condiciones óptimas del ensayo para cada lote del kit, así como un valor objetivo y el rango admitido de la desviación estándar para el calibrador, el control positivo y el control positivo bajo. El calibrador se utiliza para el análisis cuantitativo de las muestras. El control positivo y el control positivo bajo sirven para la validación interna del ensayo en un laboratorio determinado.

RIDA®SOFT Win calcula internamente un factor de corrección F a partir de la media del análisis por duplicado del calibrador y su valor objetivo. Este factor de corrección se concilia enseguida con las absorbancias de las muestras de heces. Los resultados del ensayo se pueden evaluar de manera confiable dentro de los límites de la curva estándar.

También se puede utilizar otro programa de evaluación que proporcione el modelo log-logístico de 4 parámetros en lugar de RIDA®SOFT Win.

11.2. Resultados del ensayo

Los valores medidos < 400 µg/g en heces se consideran negativos. Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores estándar.

12. Limitaciones del método

El ensayo RIDASCREEN® α_1 -antitrypsin detecta epítomos de α_1 -antitripsina en muestras de heces. Este ensayo no permite derivar correlaciones entre el nivel de la media de extinción determinada y la gravedad de los síntomas clínicos. Los resultados obtenidos deben interpretarse siempre en combinación con el cuadro y los síntomas clínicos.

13. Características de rendimiento

13.1. Calidad del ensayo

En un estudio realizado por un laboratorio independiente se analizó la sensibilidad y especificidad del ensayo de ELISA RIDASCREEN® α_1 -antitrypsin en 153 muestras de heces y se compararon con aquellas del ensayo inmunoquimioluminiscente (ILMA de α_1 -antitripsina) utilizado normalmente en ese centro. A tenor de los resultados del estudio, los rendimientos son los siguientes:

Sensibilidad: 96,3 %

Especificidad: 83,0 %

13.2. Límite de detección

El límite de detección del ensayo de ELISA RIDASCREEN® α_1 -antitrypsin se calculó como la suma de B_0 y dos veces la desviación estándar de B_0 . B_0 es la media de determinaciones múltiples (n=36) del control negativo (= Diluent | 3).

El límite de detección de α_1 -antitrypsin se determinó en 30,8 µg/g.

13.3. Linealidad de los resultados del ensayo

Para verificar la linealidad del ensayo de ELISA RIDASCREEN® α_1 -antitrypsin ELISA, se prepararon series de diluciones seriadas de muestras de heces positivas

y negativas a α_1 -antitripsina. El pesaje y la suspensión de muestras y el paso inicial de dilución se realizaron según las indicaciones de estas instrucciones (consulte 9.4.). Enseguida, se prepararon diluciones seriadas utilizando el búfer de dilución de muestras RIDASCREEN® [Diluent | 3]. A partir de la extinción de las distintas concentraciones se calcularon las concentraciones de partida utilizando el factor de dilución correspondiente. Las series de diluciones para una muestra representativa positiva y negativa a α_1 -antitripsina se presentan en la tabla 2.

Tabla 2: Determinación de la linealidad de los resultados del ensayo

Dilución	RIDASCREEN® α_1 -antitrypsin	
	Muestra pos. [$\mu\text{g/g heces}$]	Muestra neg. [$\mu\text{g/g heces}$]
1:12 500	526	241
1:20 000	484	235
1:25 000	525	255
1:30 000	518	252
VM	513	246
DE	19,8	9,4
% CV	3,9	4,8

13.4. Precisión

La reproducibilidad intra e interensayo del ensayo de ELISA RIDASCREEN® α_1 -antitrypsin se determinó múltiples veces en días diferentes en condiciones óptimas. Los resultados se muestran en las tablas 3 y 4.

Tabla 3: Reproducibilidad intraensayo (n = 20)

Intraensayo	RIDASCREEN® α_1 -antitrypsin	
	1. Concentración [10 ng/ml]	2. Concentración [30 ng/ml]
VM (DO)	0,404	1,081
DE	0,020	0,051
% CV	4,9	4,8

Tabla 4: Reproducibilidad interensayo (n = 16)










Interensayo	RIDASCREEN® α_1 -antitrypsin	
	1. Concentración [10 ng/ml]	2. Concentración [30 ng/ml]
VM (DO)	0,409	1,080
DE	0,032	0,057
% CV	7,9	5,3

14. Historial de versiones



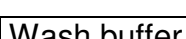
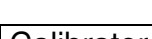
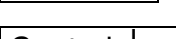
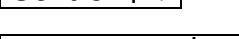
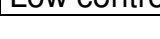
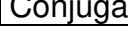

Número de versión	Capítulo y designación
2019-07-01	Revisión general 14. Historial de versiones 15. Explicación de los símbolos

15. Explicación de los símbolos

Símbolos generales

	Para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Obsérvese las instrucciones de uso
	Número de lote
	Utilizable hasta
	Temperatura de almacenamiento
	Número de artículo
	Número de pruebas
	Fecha de fabricación
	Fabricante

Símbolos específicos de prueba

	Placa de microtitulación
	Búfer de dilución de muestras
	Búfer de lavado 10x
	Calibrador
	Control alto
	Control bajo
	Conjugado
	Substrato
	Reactivo de parada

16. Bibliografía

1. Arndt et al., 1993, *Crohn; Clin. Lab.* 11: 867-876
2. Stein, J., 1996, 3. *Post-graduertenkurs der DGVS*
3. Assessment of Crohn's disease activity and alpha 1-antitrypsin in faeces; Arndt B, Schürmann G, Betzler M, Herfarth C, Schmidt-Gayk H.; *Lancet.* 1992 Oct 24; 340(8826):1037.
4. Enteric protein loss in various gastrointestinal diseases determined by intestinal alpha 1-antitrypsin clearance; Karbach U, Ewe K.; *Z Gastroenterol.* 1989 Jul; 27(7):362-5.
5. Detection of increased permeability of the intestinal mucosa in chronic inflammatory bowel diseases; Karbach U.; *Z Gastroenterol Verh.* 1989 Jul; 24:40-4.
6. Alpha 1-antitrypsin excretion in stool in normal subjects and in patients with gastrointestinal disorders; Strygler B, Nicar MJ, Santangelo WC, Porter JL, Fordtran JS.; *Gastroenterology.* 1990 Nov; 99(5):1380-7.
7. Regulation of alpha1-proteinase inhibitor release by proinflammatory cytokines in human intestinal epithelial cells; Faust D, Raschke K, Hormann S, Milovic V, Stein J.; *Clin Exp Immunol.* 2002 May; 128(2):279-84.