

## RIDASCREEN® sIgA

**REF** G09035



## 1. Uso previsto

Para el diagnóstico *in vitro*. RIDASCREEN® sIgA es un inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de IgA secretora humana (sIgA) en muestras de heces.

## 2. Resumen y descripción del ensayo

IgA es la más heterogénea de todas las inmunoglobulinas humanas. Los anticuerpos IgA están presentes en fluidos corporales externos y constituyen una importante barrera defensiva contra patógenos.

Las concentraciones fecales de sIgA pueden proporcionar información sobre el estado autoinmunitario de la mucosa intestinal.

La IgA está presente en forma secretora monomérica (mIgA), polimérica (pIgA) y dimérica (sIgA). La formación de IgA secretora es independiente de la síntesis de IgA sérica. La IgA secretora consta de dos moléculas de IgA (monoméricas), una cadena J, un componente secretor (cadena SC) y un polipéptido con una masa molecular de 70 kDa. El componente secretor es sintetizado por las células epiteliales de la mucosa de los tractos gastrointestinal, respiratorio y urogenital y por las glándulas salivales, lacrimales y mamarias. Las células plasmáticas del espacio subendotelial de la mucosa secretan un complejo compuesto de dos moléculas IgA enlazadas a través de la proteína J. Este complejo se liga al componente secretor situado en la superficie de la célula epitelial. Después de ligarse, la sIgA se transporta selectivamente a través de la célula epitelial por acción de receptores epiteliales y se libera por exocitosis en la superficie de la mucosa. De esta manera, la IgA secretora (sIgA) se transporta en grandes cantidades, p. ej., a la superficie de la mucosa intestinal. La IgA secretora también se puede encontrar en otras secreciones corporales, como leche materna, saliva, lágrimas y mucosidad nasal y traqueobronquial.

La determinación de las concentraciones de sIgA en heces puede proporcionar información sobre el estado funcional del tejido linfoide asociado al intestino (GALT), el sistema inmunitario del intestino. sIgA es un indicador del rendimiento secretor y el nivel de estimulación de las células plasmáticas en la submucosa intestinal.

La deficiencia de sIgA es un reflejo de una baja actividad del sistema inmunitario de la mucosa intestinal, mientras que niveles altos de sIgA indican un aumento de la actividad del sistema inmunitario intestinal.

Habida cuenta de la potente acción antiinflamatoria de la IgA, el aumento de las concentraciones fecales de sIgA indica la presencia de respuestas inflamatorias locales en la mucosa intestinal.

RIDASCREEN® sIgA para la detección rápida y fiable de:

- El estado funcional del tejido linfoide asociado al intestino (GALT)
- La disminución del nivel de sIgA: reducción en la actividad del sistema inmunitario asociado al intestino
- El aumento del nivel de sIgA: aumento en la actividad del sistema inmunitario asociado al intestino
- La función defensiva inmunitaria mermada de la mucosa intestinal (mayor susceptibilidad a infecciones, enfermedades alérgicas)
- Inflamación local de la mucosa intestinal
- Enfermedades autoinmunitarias

### **3. Principio del ensayo**

En RIDASCREEN® sIgA se utilizan anticuerpos específicos según un método tipo sándwich. La superficie del pocillo de la placa de microtitulación se recubre con anticuerpos específicos contra epítomos de sIgA humana. Se pipetea una suspensión de la muestra de heces objeto del ensayo en un pocillo de la placa de microtitulación y se incuba. A esto le sigue un paso de lavado y una segunda incubación con un anticuerpo monoclonal conjugado con peroxidasa de rábano. En presencia de sIgA, el anticuerpo inmovilizado, el antígeno sIgA, y el anticuerpo conjugado forman un complejo tipo sándwich. 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 absorbancia medida es proporcional a la concentración de sIgA 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 IgA.
Extract 10x	100 ml	Búfer de extracción y dilución (conc. 10x); para extracción y dilución inicial de muestras de heces; solución salina tamponada con fosfato; contiene Tween al 0,1 % y NaN <sub>3</sub> al 0,1 %.
Diluent   3	100 ml	Búfer de dilución de muestras 3 (para dilución final), solución de NaCl tamponada con proteínas; contiene NaN <sub>3</sub> 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 (para calibración estándar); contiene NaN <sub>3</sub> al 0,1 %; listo para usar
High control	1 ml	Control alto, contiene de NaN <sub>3</sub> al 0,1 %; listo para usar
Low control	1 ml	Control bajo, contiene NaN <sub>3</sub> al 0,1 %; listo para usar
Conjugate	12 ml	Anticuerpo monoclonal (de ratón) conjugado con peroxidasa contra sIgA 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](http://www.r-biopharm.com).

#### 5. Instrucciones de almacenamiento

Todos los reactivos deben almacenarse a 2 - 8 °C y pueden utilizarse hasta la fecha de caducidad impresa en la etiqueta correspondiente. 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. Utilice tijeras para abrir la bolsa de aluminio que contiene las tiras de microtitulación; cuide que no se rompa el precinto

de seguridad. Las tiras de microtitulación 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**

- Microbalanza
- 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**

Para el diagnóstico *in vitro* exclusivamente.

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](http://www.r-biopharm.com).

Las muestras de heces se deben manejar como potencialmente infecciosas, según los requerimientos 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 alto, el control bajo, el búfer de extracción y de dilución de muestras contienen NaN<sub>3</sub> al 0,1 % como conservador. Esta sustancia no debe entrar en contacto con la piel ni con las membranas mucosas.

El peróxido de hidrógeno (substrato) 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**

Las muestras de heces se deben transportar congeladas de ser posible y se deben almacenar a entre 2 - 8 °C antes del ensayo. Se recomienda la preparación inmediata de la muestra o conservarla como mínimo a -20 °C. No congele y descongele la muestra repetidamente. No guarde las muestras de heces en recipientes de transporte que contengan materiales con conservadores, sueros animales, iones metálicos, agentes oxidantes o detergentes porque pueden interferir con el ensayo RIDASCREEN® sIgA.

## **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. Tras su uso, las tiras de microtitulación (colocadas en bolsas selladas) y los reactivos sin usar deben almacenarse de nuevo a 2 - 8 °C. Una vez usadas, las tiras de microtitulación no podrán utilizarse de nuevo. 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.

### **9.2. Preparación del búfer de lavado**

Mezcle 1 parte de concentrado de búfer de lavado Wash 10x con 9 partes de agua destilada (1:10). Para este paso, añada 100 ml de concentrado a una probeta

graduada de 1000 ml y afore hasta 1000 ml con 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 de concentrado del búfer de extracción **Extract 10x** con 9 partes de agua destilada (1:10). Para este paso, añada 100 ml de concentrado a una probeta graduada de 1000 ml y afore hasta 1000 ml con agua destilada. 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

Se recomienda conservar las muestras de heces a -20 °C hasta el momento de la preparación. Las muestras congeladas se deben templar lentamente a temperatura ambiente.

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, se pesan entre 80 y 130 mg de la muestra de heces, y para asegurar una relación constante de dilución (1:50), el volumen del búfer de extracción diluido varía dependiendo del peso de la muestra de heces (consulte la tabla 1).

**Tabla 1:** Datos sobre las cantidades requeridas de búfer de extracción diluido en función de la cantidad de heces pesada (factor de dilución constante de 1:50)

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
115	5,75
120	6,00
125	6,25
130	6,50

Durante la resuspensión en un volumen constante de 5 ml de búfer de extracción, se debe considerar el factor de dilución variable en el cálculo (consulte la tabla 2).

**Tabla 2:** Datos del factor de dilución con la adición constante de búfer de extracción diluido (5 ml) según el peso de las heces

Peso de la muestra [mg]	Factor de dilución
80	62,50
85	58,82
90	55,55
95	52,63
100	50,00
105	47,62
110	45,45
115	43,45
120	41,66
125	40,05
130	38,46

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. El sobrenadante del extracto debe volver a diluirse para utilizarlo inmediatamente en el ensayo. Se recomienda conservar el sobrenadante en alícuotas a -20 °C como mínimo.

#### 9.4.2. Dilución manual de muestras

Diluya 50 µl del sobrenadante clarificado (consulte 9.4.1.) en 950 µl de búfer de extracción diluido (1:20) y homogeneice la muestra en el mezclador de vórtice. La muestra se diluye adicionalmente al diluir 100 µl de la primera dilución con 900 µl de búfer de dilución de muestras de RIDASCREEN® Diluent | 3 (1:10), y se homogeneiza en el mezclador de vórtice. Esta dilución final de la muestra de heces (1:10 000) se utilizará en el ensayo.

Un método alternativo adecuado para procesar y homogeneizar el material de la muestra descrito anteriormente es el sistema de preparación de muestras suministrado por la empresa. R-Biopharm AG tendrá el gusto de proporcionar bajo demanda instrucciones de uso especiales para este método.



### 9.4.3. Dilución automática de muestras

Si el ensayo se va a realizar en el sistema automático de ELISA DSX (Dynerx Technologies, Inc.), se debe solicitar el protocolo de ensayo específico necesario a R-Biopharm AG y aplicarlo al sistema. La muestra se diluirá automáticamente según se describe a continuación.

El sistema ELISA automático pipetea 25 µl del sobrenadante clarificado en una placa de pocillos profundos y lo 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® sIgA.

Seguidamente se transfieren volúmenes individuales de 20 µl de la dilución de la muestra de la placa de pocillos profundos a la placa de microtitulación [Plate] RIDASCREEN® sIgA y se diluyen nuevamente con 80 µl de búfer de dilución de muestras RIDASCREEN® [Diluent | 3] (1:5; dilución final 1:10 000).

Para obtener las instrucciones sobre cómo realizar el ensayo con otros sistemas de pipeteado automático para ELISA, póngase en contacto con R-Biopharm AG.

### 9.5. Primera incubación

Después de colocar un número suficiente de pocillos en el soporte, añada 100 µl de calibrador [Calibrator] (por duplicado), búfer de dilución de muestras RIDASCREEN® [Diluent | 3] (= control negativo), control alto [High control | +] y las diluciones de las muestras de heces finales analizadas en los pocillos correspondientes. En caso de utilizarlo, añada al ensayo 100 µl del control bajo [Low control | +]. A continuación, incube la placa durante una hora a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

### 9.6. Primer lavado

Para obtener resultados correctos es fundamental realizar un lavado exhaustivo y, en consecuencia, debe realizarse rigurosamente conforme a las instrucciones. Las sustancias incubadas en los pocillos se deben vaciar en un recipiente de residuos que contenga solución de hipoclorito para su desinfección. A continuación, golpee la placa sobre papel absorbente para eliminar la humedad residual. Enseguida, lave la placa 5 veces con 300 µl de búfer de lavado diluido cada vez (consulte 9.2.).

Después de cada 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 al tipo de placa de microtitulación utilizado. Además, una suspensión de heces que presente partículas antes del primer lavado deberá eliminarse manualmente de las cavidades 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 hora a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

### 9.8. Segundo lavado

Una vez transcurrido el periodo de incubación, vacíe el conjugado de los pocillos en un recipiente de residuos que contenga solución de 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 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. Estas muestras se deben diluir 1:10 y se deben usar nuevamente en el ensayo (consulte 9.5.) (dilución final de la muestra de heces: 1:100 000).

## 10. Control de calidad: indicación de la inestabilidad o deterioro de los reactivos

Para fines de control de calidad, el calibrador **Calibrator** (en duplicado), el búfer de dilución de muestras RIDASCREEN® **Diluent | 3** como un control negativo y el control alto **High control | +** deben usarse cada vez que se realice el ensayo para asegurar la estabilidad de los reactivos y el rendimiento correcto del ensayo. El uso del control bajo es opcional.

El ensayo se realizó correctamente si la extinción media (DO) del control negativo a 450 nm/620 nm es menor que 0,05 y la extinción media (DO) promediada del calibrador está dentro del rango que se indica en la hoja de datos específica del lote. Este control alto debe estar dentro del rango de concentraciones específico del lote indicado en la hoja de datos.

Cuando se procesa RIDASCREEN® sIgA en sistemas de ELISA abiertos totalmente automáticos, la DO medida del calibrador **Calibrator** puede desviarse del rango indicado en el certificado específico del lote, dependiendo del sistema. En los

sistemas de ELISA totalmente automáticos, el control alto **High control | +** es decisivo para la validez de los resultados del ensayo y, por lo tanto, debe incluirse siempre. No es absolutamente indispensable usar el control bajo **Low control | +**.

Las desviaciones de los valores requeridos, la turbidez del reactivo o la coloración azul del substrato incoloro antes de añadirlo a los pocillos pueden indicar que los reactivos han caducado. 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 utilice soluciones de substrato que hayan virado a color azul.

Si los requisitos 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 RIDASCREEN® slgA se usa un modelo log-logístico de 4 parámetros (4PL) para determinar la concentración de slgA en una muestra de heces en µg/g.

Es necesario disponer del software de evaluación RIDA®SOFT Win.net para calcular los resultados. El software RIDA®SOFT Win.net 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 alto y el control 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 alto y el control bajo.

El calibrador también se prueba para compensar las fluctuaciones del ensayo y comprobar la calidad de la ejecución de la prueba. El control alto proporciona información sobre la validez del ensayo.

RIDA®SOFT Win.net 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.net.

## 11.2. Resultados del ensayo

El rango normal de sIgA es 100-1200 µg sIgA/g heces. Si los resultados son inferiores a 100 µg sIgA/g heces, los pacientes tienen niveles de sIgA reducidos. Si los resultados son superiores a 1200 µg sIgA/g heces, los pacientes tienen niveles de sIgA aumentados.

Se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango de valores estándar.

## 12. Limitaciones del método

El kit RIDASCREEN® sIgA detecta epítomos de sIgA humana 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. Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica se determinó mediante el análisis del límite del blanco (LoB) usando un total de 210 mediciones de un búfer, consistente en un búfer de extracción y diluyente, y el análisis del límite de detección (LoD) usando 70 mediciones de una muestra de control positivo. Los resultados se muestran en la tabla 3.

**Tabla 3:** Resultados de la sensibilidad analítica

	VM [DO 450/620 nm]	µg/g
LoB	0,003	-
LoD	-	65,07

### 13.2. Precisión

La reproducibilidad intra e interensayo de RIDASCREEN® sIgA se determinó múltiples veces en días diferentes en condiciones óptimas. Se calculó el valor medio (VM), la desviación estándar (DE) y el coeficiente de variación (CV) de los resultados. Los resultados se muestran en las tablas 3 y 4.

**Tabla 4:** Reproducibilidad intraensayo (n = 16)

	<b>1. Concentración [600 µg/g]</b>	<b>2. Concentración [1200 µg/g]</b>
VM (ng/ml)	674	1380
DE	45,6	55,80
<b>% CV</b>	<b>6,8</b>	<b>4,0</b>

**Tabla 5:** Reproducibilidad interensayo (n = 8)

	<b>1. Concentración [660 µg/g]</b>	<b>2. Concentración [1500 µg/g]</b>
VM (ng/ml)	677	1461
DE	79,7	85,5
<b>% CV</b>	<b>11,8</b>	<b>5,9</b>

### 13.3. Linealidad de los resultados del ensayo

Para verificar la linealidad de RIDASCREEN® sIgA, se prepararon diluciones seriadas de varias muestras de heces que contenían sIgA, se determinaron pesos y suspensiones de muestras, así como la primera dilución de la muestra, según estas instrucciones (consulte 9.4.). Enseguida, los pasos de la dilución seriada se realizaron con el búfer de dilución de muestras RIDASCREEN® Diluent | 3. Se calcularon las concentraciones determinadas en el ensayo comparadas con las concentraciones esperadas. En la Tabla 5 se muestran las diluciones seriadas de tres muestras con diversas concentraciones de sIgA.

**Tabla 5:** Determinación de la linealidad de los resultados del ensayo










Muestra	Dilución	Concentración determinada (µg/g)	Concentración esperada (µg/g)	Conc. determinada/conc. esperada
1	1:10 000	807,00		
	1:20 000	406,00	403,50	101 %
	1:40 000	207,50	201,75	103 %
	1:80 000	104,25	100,88	103 %
	1:160 000	57,69	50,44	114 %
	VM			105 %
2	1:10 000	1175,00		
	1:20 000	576,50	587,50	98 %
	1:40 000	280,25	293,75	95 %
	1:80 000	146,38	146,88	100 %
	1:160 000	74,69	73,44	102 %
	VM			99 %
3	1:10 000	378,00		
	1:20 000	202,50	189,00	107 %
	1:40 000	107,25	94,50	113 %
	1:80 000	58,75	47,25	124 %
	1:160 000	-	23,63	-
	VM			115 %
	VM (total)			106 %

## 14. Historial de versiones



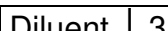
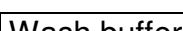

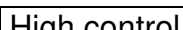
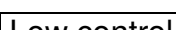
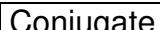
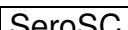

Número de versión	Capítulo y designación
2019-02-27	Revisión general 14. Historial de versiones 15. Explicación de los símbolos

## 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 extracción y dilución
	Búfer de dilución de muestras
	Búfer de lavado 10x
	Calibrator
	Control alto
	Control bajo
	Conjugado
	Substrato
	Reactivo de parada

## 16. Bibliografía

1. Brand S, Gerritzen A. Evaluation eines neuen Enzym-Immuno-Assays zum Nachweis von sekretorischem IgA im Stuhl. Poster DGKL 2010.
2. Brandtzaeg P. Update on mucosal immunoglobulin A in gastrointestinal disease. *Current Opinion in Gastroenterology* 2010, 26: 554–563.
3. Goldblum RM. The role of IgA in local immune protection. *J Clin Immunol* 1990; 10(6): 64S-71S.
4. Mestecky Y et al. Intestinal IgA: novel views on its function in the defence of the largest mucosal surface. *Gut* 1999; 44: 2-5.
5. Motegi Y et al. Role of secretory component, and eosinophils in mucosal inflammation. *Int Arch Allergy Immunol* 2000;122(suppl 1): 25–27.
6. Rüssmann H et al. IgA/IgM and secretory immunity. *Sepsis* 1999; 3: 219-234.
7. Russel MW et al. Molecular heterogeneity of human IgA antibodies during an immune response. *Clin Exp Immunol* 1992; 87: 1-6.