

RIDASCREEN® slgA

REF G09035



1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. RIDASCREEN® sIgA est un test immunoenzymatique destiné à la détection quantitative des IgA sécrétoires (IgAs) humaines dans des échantillons de selles.

2. Résumé et explication du test

Les IgA constituent les immunoglobulines humaines les plus hétérogènes. Présentes dans les fluides corporels externes, elles constituent une importante barrière de défense contre les pathogènes.

La concentration en IgA sécrétoire dans les fèces fournit des informations sur l'état des défenses immunitaires de la muqueuse intestinale.

Les IgA se présentent sous forme monomérique (IgAm), polymérique (IgAp) et dimérique sécrétoire (IgAs). La formation des IgA sécrétoires est indépendante de la synthèse des IgA sériques. Les IgA sécrétoires se composent de deux molécules d'IgA (monomériques), d'une chaîne J, d'un composant sécrétoire (SC) et d'un polypeptide ayant une masse moléculaire de 70 kDa. Le composant sécrétoire est synthétisé par les cellules épithéliales des muqueuses des voies gastro-intestinales, respiratoires et urogénitales, ainsi que des glandes salivaires, lacrymales et mammaires. Les cellules plasmiques présentes dans l'espace sous-endothélial des muqueuses sécrètent un complexe composé de deux molécules d'IgA reliées entre elles par la protéine J. Ce complexe se lie ensuite au composant sécrétoire, qui se trouve à la surface de la cellule épithéliale. Après s'être liées, les IgAs sont transportées de manière sélective dans la cellule épithéliale grâce aux récepteurs épithéliaux, puis excrétées à la surface des muqueuses par exocytose. Les IgA sécrétoires (IgAs) sont ainsi transportées en grandes quantités vers la surface de la muqueuse intestinale, par exemple. Les IgA sécrétoires peuvent toutefois se trouver également dans d'autres sécrétions corporelles comme le lait maternel, la salive, les larmes, ainsi que le mucus nasal et trachéobronchique.

La détermination des concentrations en IgAs dans les selles peut fournir des informations sur l'état fonctionnel du tissu lymphoïde associé au tube digestif (GALT), qui constitue le système immunitaire de l'intestin. Les IgAs constituent un indicateur des performances sécrétoires et du niveau de stimulation des cellules plasmiques dans la sous-muqueuse intestinale.

Une carence en IgAs est le signe d'une activité réduite des défenses immunitaires de la muqueuse intestinale, tandis qu'une hausse du taux d'IgAs indique une augmentation de l'activité du système immunitaire intestinal.

Compte-tenu des propriétés anti-inflammatoires puissantes des IgA, une augmentation des concentrations fécales en IgAs indique la présence de réactions inflammatoires locales dans la muqueuse intestinale.

RIDASCREEN® sIgA pour une détection rapide et fiable des éléments suivants :

- État fonctionnel des tissus lymphoïdes associés au tube digestif (GALT)
- Baisse du taux d'IgAs : réduction de l'activité du système immunitaire associé au tube digestif
- Hausse du taux d'IgAs : augmentation de l'activité du système immunitaire associé au tube digestif
- Dysfonctionnement de la barrière immunologique de la muqueuse intestinale (sensibilité accrue aux infections, allergies)
- Inflammation locale de la muqueuse intestinale
- Maladies auto-immunes

3. Principe du test

Le test RIDASCREEN® sIgA utilise des anticorps spécifiques dans le cadre d'une méthode de type sandwich. La surface du puits de la plaque de microtitrage est revêtue d'anticorps spécifiques dirigés contre les épitopes des IgAs humaines. Une suspension de l'échantillon de selles à tester est pipetée dans un puits de la plaque de microtitrage, puis incubée. Cette étape est suivie d'une étape de lavage, puis d'une seconde incubation avec un anticorps monoclonal conjugué à de la peroxydase de raifort. En présence d'IgAs, l'anticorps immobilisé, l'antigène IgAs et l'anticorps conjugué forment un complexe en sandwich. Les anticorps marqués à l'enzyme non liés sont éliminés au cours de l'étape de lavage suivante. Dans les échantillons positifs, après l'ajout d'un substrat, l'enzyme liée fait virer la solution incolore au bleu dans les puits de la plaque de microtitrage. L'ajout d'un réactif stop fait virer la couleur du bleu au jaune. L'absorbance mesurée est proportionnelle à la concentration en IgA sécrétoires de l'échantillon.

4. Contenu de la trousse

Les réactifs fournis dans la trousse permettent de faire 96 déterminations.

| | | |
|--------------|----------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Plate | 96 tests | Plaque de microtitrage, 12 barrettes de microtitrage (sécables) sur un support ; revêtue d'anticorps polyclonaux (de lapins) dirigés contre les IgA sécrétoires |
| Extract 10x | 100 ml | Tampon d'extraction et de dilution (conc. 10x) ; pour l'extraction et la première dilution des échantillons de selles ; solution de NaCl tamponnée au phosphate ; contient 0,1 % de Tween et 0,1 % de NaN ₃ |
| Diluent 3 | 100 ml | Tampon de dilution d'échantillon 3 (pour dilution finale), solution de NaCl tamponnée à la protéine ; contient 0,1 % de NaN ₃ ; prêt à l'emploi ; coloration rouge |
| Wash buffer | 100 ml | Solution tampon concentrée 10 fois ; solution de NaCl tamponnée au phosphate ; contient 0,1 % de thimérosal |
| Calibrator | 1 ml | Calibreur (pour l'étalonnage standard) ; contient 0,1 % de NaN ₃ ; prêt à l'emploi |
| High control | 1 ml | Contrôle élevé ; contient 0,1 % de NaN ₃ ; prêt à l'emploi |
| Low control | 1 ml | Contrôle faible ; contient 0,1 % de NaN ₃ ; prêt à l'emploi |
| Conjugate | 12 ml | Anticorps monoclonal (souris) dirigé contre les IgAs humaines conjugué à de la peroxydase dans une solution protéique stabilisée ; prêt à l'emploi |
| SeroSC | 12 ml | Substrat ; peroxyde d'hydrogène/TMB ; prêt à l'emploi |
| Stop | 12 ml | Réactif stop ; acide sulfurique 1 N ; prêt à l'emploi |

Les substances dangereuses sont signalées conformément aux dispositions d'étiquetage obligatoires. Pour en savoir plus, consulter la Fiche de données de sécurité (FDS) à l'adresse www.r-biopharm.com.

5. Instructions de conservation des réactifs

Tous les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Dans ces conditions, ils peuvent être utilisés jusqu'à la date de péremption imprimée sur l'étiquette correspondante. Les solutions tampon et les tampons d'extraction dilués peuvent être utilisés pendant 4 semaines au maximum lorsqu'ils sont conservés entre 2 et 8 °C. La contamination microbienne doit être évitée. Après la date de péremption, la qualité n'est plus garantie. Utiliser des ciseaux pour ouvrir le sachet en aluminium

contenant les barrettes de microtitrage en veillant à ne pas arracher le joint d'étanchéité. Les barrettes de microtitrage qui ne sont pas nécessaires doivent être remises immédiatement dans le sachet en aluminium et conservées entre 2 et 8 °C. Le substrat incolore doit également être protégé de la lumière directe pour éviter qu'il ne se décompose ou ne bleuisse sous l'effet d'une auto-oxydation. Lorsque le substrat est bleu, il ne doit pas être utilisé.

6. Autres réactifs et matériel nécessaires

6.1. Réactifs

- Eau distillée ou désionisée

6.2. Matériel

- Micro-balance
- Agitateur-mélangeur vortex (facultatif, voir rubrique 9.4.)
- Micropipette pour volumes de 50 à 100 µl et 1 ml
- Éprouvette graduée (1 000 ml)
- Chronomètre
- Appareil de lavage pour plaques de microtitrage ou pipettes multicanaux (300 µl)
- Photomètre pour plaques de microtitrage (450 nm ; filtre de référence ≥ 620 nm)
- Papier filtre (lingettes de laboratoire)
- Conteneur de déchets contenant 0,5 % de solution d'hypochlorite

7. Mesures de précaution

Uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

Ce test doit uniquement être réalisé par un personnel de laboratoire formé. Il convient de respecter les directives de travail dans les laboratoires médicaux. Les instructions d'exécution du test doivent être respectées à la lettre. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche. Éviter tout contact avec les plaies ou les membranes muqueuses. Lors de la manipulation des réactifs et des échantillons, porter un équipement de protection individuelle (gants adaptés, blouse, lunettes de protection) et se laver les mains à l'issue du test. Ne pas fumer, manger, ni boire dans les zones où des échantillons sont manipulés.

Pour en savoir plus, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur www.r-biopharm.com.

Les échantillons de selles doivent être manipulés comme s'ils étaient potentiellement infectieux, conformément aux exigences de sécurité nationales.

La solution tampon contient du thimérosal à 0,1 % comme conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses. Le calibreur, le contrôle élevé, le contrôle faible et les tampons d'extraction et de dilution d'échantillon contiennent 0,1 % de NaN₃ comme conservateur. Cette substance ne doit pas entrer en contact avec la peau ou les membranes muqueuses.

Le peroxyde d'hydrogène (substrat) peut provoquer des brûlures. Le manipuler avec prudence.

Le réactif stop contient de l'acide sulfurique 1 N. Éviter tout contact avec la peau et les vêtements. Si le réactif entre en contact avec la peau, rincer la peau avec de l'eau.

Tous les réactifs et matériaux entrant en contact avec des échantillons potentiellement infectieux doivent être traités avec des désinfectants adaptés ou passés en autoclave à 121 °C pendant au moins une heure.

MISE EN GARDE : Pour éviter que des gaz toxiques ne se forment, tout déchet liquide contenant du réactif d'arrêt doit être neutralisé avant d'ajouter la solution d'hypochlorite.

Après utilisation, les utilisateurs sont responsables de la mise au rebut appropriée de tous les réactifs et matériaux. Pour la mise au rebut, respecter les règlements nationaux.

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Les échantillons de selles doivent être transportés réfrigérés, dans la mesure du possible, et conservés entre 2 et 8 °C avant le test. Il est recommandé de préparer immédiatement l'échantillon ou de le conserver à -20 °C ou à une température inférieure. Éviter de congeler et décongeler les échantillons plusieurs fois. Les échantillons de selles ne doivent pas être recueillis dans des conteneurs de transport renfermant un milieu de transport et des conservateurs, du sérum animal, des ions métalliques, des agents oxydants ou des détergents, car ces substances peuvent interférer avec le test RIDASCREEN® sIgA.

9. Réalisation du test

9.1. Informations générales

Tous les réactifs et la plaque de microtitrage Plate doivent être ramenés à température ambiante (entre 20 et 25 °C) avant utilisation. Sortir les barrettes de microtitrage du sachet en aluminium une fois qu'elles ont atteint la température ambiante. Bien mélanger les réactifs juste avant utilisation. Après utilisation, les barrettes de microtitrage non utilisées (placées dans des sachets fermés hermétiquement) et les réactifs doivent être conservés entre 2 et 8 °C. Une fois utilisées, les barrettes de microtitrage ne doivent pas être réutilisées. Ne pas utiliser les réactifs ou les barrettes de microtitrage si l'emballage est endommagé ou si les conteneurs ne sont pas fermés hermétiquement. Pour éviter toute contamination croisée, les échantillons ne doivent pas entrer en contact direct avec les composants de la trousse. Le test ne doit pas être réalisé à la lumière directe du soleil. Il est recommandé de couvrir la plaque de microtitrage ou de placer un film plastique dessus pour éviter toute perte par évaporation.

9.2. Préparation de la solution tampon

Mélanger 1 volume de concentré de solution tampon Wash 10x dans 9 volumes d'eau distillée (1:10). Pour cette étape, verser 100 ml de concentré dans une éprouvette graduée de 1 000 ml, puis compléter le volume avec de l'eau distillée jusqu'à 1 000 ml. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être préalablement dissous à chaud (bain-marie à 37 °C).

9.3. Préparation du tampon d'extraction

Mélanger 1 volume de concentré de tampon d'extraction Extract 10x dans 9 volumes d'eau distillée (1:10). Pour cette étape, verser 100 ml de concentré dans une éprouvette graduée de 1 000 ml, puis compléter le volume avec de l'eau distillée jusqu'à 1 000 ml. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être préalablement dissous à chaud (bain-marie à 37 °C).

9.4. Préparation des échantillons

9.4.1. Pesée et mise en suspension de l'échantillon

Il est recommandé de conserver les échantillons de selles à -20 °C jusqu'à leur préparation. Les échantillons congelés doivent être amenés lentement à température ambiante.

Peser 100 mg d'échantillon de selles dans un tube à essai étiqueté, puis ajouter 5 ml de tampon d'extraction dilué à l'aide d'une pipette (dilution 1:50).

Il est également possible de peser de 80 à 130 mg d'échantillon de selles puis d'ajouter un volume de tampon d'extraction dilué approprié en fonction du poids de l'échantillon afin de garantir un rapport de dilution constant de 1:50 (voir tableau 1).

Tableau 1 : Quantités de tampon d'extraction dilué requises en fonction de la quantité de selles pesée (facteur de dilution constant de 1:50)

| Poids de l'échantillon [mg] | Volume [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 |

Lors de la remise en suspension dans un volume de tampon d'extraction fixe de 5 ml, le facteur de dilution variable doit être pris en compte dans le calcul (voir tableau 2).

Tableau 2 : Facteur de dilution en cas d'ajout fixe de tampon d'extraction dilué (5 ml) en fonction du poids de l'échantillon de selles.

| Poids de l'échantillon [mg] | Facteur de dilution |
|-----------------------------|---------------------|
| 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 |

Quelle que soit la méthode employée pour peser l'échantillon, la suspension de selles est homogénéisée en la mélangeant complètement dans un malaxeur au vortex. Si les selles sont liquides, utiliser une pipette pour prélever précisément 100 µl et les mettre en suspension dans exactement 5 ml de tampon d'extraction dilué.

La suspension homogénéisée doit ensuite être centrifugée à plus de 3 000 g pendant 10 minutes pour décanter les particules de selles grossières. Le surnageant de l'extrait doit être dilué immédiatement en vue d'une utilisation dans le test. Il est recommandé de conserver le surnageant aliquoté à -20 °C ou à une température inférieure.

9.4.2. Dilution manuelle de l'échantillon

Diluer 50 µl du surnageant clarifié (voir rubrique 9.4.1) dans 950 µl de tampon d'extraction dilué (1:20), puis agiter l'échantillon au vortex. L'échantillon est ensuite de nouveau dilué au 1:10 en diluant 100 µl de la première dilution dans 900 µl de tampon de dilution d'échantillon RIDASCREEN® Diluent | 3 puis en agitant le mélange au vortex. La dilution finale de l'échantillon de selles (1:10 000) sera utilisée pour effectuer le test.

Une autre méthode de traitement et d'homogénéisation de l'échantillon, décrite précédemment, consiste à utiliser le système de préparation d'échantillon fourni par la société. R-Biopharm AG se fera un plaisir de vous fournir, sur demande, des instructions spéciales concernant l'utilisation de cette méthode.

9.4.3. Dilution automatique de l'échantillon

Si le test doit être effectué sur un système ELISA automatisé DSX (Dyner Technologies, Inc.), le protocole de test à appliquer doit être obtenu auprès de R-Biopharm AG et installé sur le système. L'échantillon est ensuite dilué automatiquement comme expliqué ci-dessous.

Le système ELISA automatique pipette un volume de 25 µl du surnageant clarifié dans une plaque à puits profonds, puis le dilue dans 975 µl de tampon d'extraction dilué (1:40). Deux cycles de mélange sont réalisés.

Le nombre requis de barrettes de microtitrage est placé dans le support de la plaque de microtitrage RIDASCREEN® sIgA. [Plate].

Chaque volume de 20 µl de dilution d'échantillon est transféré de la plaque à puits profonds dans la plaque de microtitrage RIDASCREEN® sIgA [Plate], puis dilué avec 80 µl de tampon de dilution d'échantillon RIDASCREEN® [Diluent | 3] (1:5 ; dilution finale 1:10 000).

Pour obtenir des instructions sur l'exécution du test avec d'autres systèmes de pipetage automatisés ELISA, contacter R-Biopharm AG.

9.5. Première incubation

Après avoir placé un nombre de puits suffisant dans le support, ajouter 100 µl de calibre [Calibrator] (en double), de tampon de dilution d'échantillon RIDASCREEN® [Diluent | 3] (= contrôle négatif), de contrôle élevé [High control | +] et de dilution finale de l'échantillon de selles à analyser dans les puits correspondants. Le cas échéant, ajouter 100 µl du contrôle faible [Low control | +] au test. Ensuite, incuber la plaque pendant une heure à température ambiante (20 à 25 °C).

9.6. Premier lavage

Il est important de réaliser le lavage soigneusement pour obtenir des résultats corrects et donc, de respecter les instructions à la lettre. La substance incubée dans les puits doit être vidée dans un conteneur de déchets contenant la solution d'hypochlorite à des fins de désinfection. Ensuite, tapoter la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité restante. Laver ensuite la plaque 5 fois en utilisant 300 µl de solution tampon diluée à chaque fois (voir rubrique 9.2). Vérifier que les puits sont complètement vidés en les tapotant après chaque lavage sur une zone sèche et inutilisée d'un papier absorbant.

Lorsqu'un laveur de microplaques est utilisé, s'assurer qu'il est correctement réglé par rapport au type de plaque de microtitrage utilisée. En outre, une suspension de selles qui contient encore des particules avant le premier lavage doit être retirée manuellement des alvéoles par centrifugation pour éviter d'obstruer les aiguilles de lavage. S'assurer également que tout le liquide est aspiré à chaque étape de lavage. Après le dernier lavage, retourner la plaque et la tapoter vigoureusement contre un papier absorbant propre ou des serviettes de laboratoire pour s'assurer que toute humidité résiduelle a été éliminée.

9.7. Seconde incubation

Ajouter 100 µl du conjugué **Conjugate** dans chaque puits. Ensuite, incuber la plaque pendant une heure à température ambiante (entre 20 et 25 °C).

9.8. Deuxième lavage

Au terme de la période d'incubation, vider le conjugué présent dans les puits dans un conteneur de déchets contenant une solution d'hypochlorite à des fins de désinfection. Ensuite, tapoter la plaque sur du papier absorbant pour éliminer l'humidité restante. Laver ensuite la plaque 5 fois en utilisant 300 µl de solution tampon à chaque fois. Vérifier que les puits sont complètement vidés en les tapotant après chaque lavage sur une zone sèche et inutilisée d'un papier absorbant.

9.9. Troisième incubation

Ajouter 100 µl de substrat **SeroSC** dans chaque puits. Ensuite, incuber la plaque à température ambiante (entre 20 et 25 °C), dans le noir, pendant 15 minutes. Puis, arrêter la réaction en ajoutant 50 µl de réactif stop **Stop** dans chaque puits. Après un mélange soigneux (en tapotant légèrement le côté de la plaque), mesurer l'absorbance à 450 nm et à une longueur d'onde de référence de 620 nm.

Remarque : des échantillons de patients fortement positifs peuvent entraîner des précipités noirâtres du substrat. Ces échantillons doivent être dilués au 1:10 et réutilisés dans le test (voir rubrique 9.5) (dilution finale de l'échantillon de selles : 1:10 000).

10. Contrôle qualité — signes d'instabilité ou de détérioration des réactifs

À des fins de contrôle qualité, chaque fois qu'un test est effectué, il est nécessaire d'utiliser le calibre **Calibrator** (en double), le tampon de dilution d'échantillon RIDASCREEN® **Diluent | 3** comme contrôle négatif, et le contrôle élevé **High control | +** pour vérifier la stabilité des réactifs et la réalisation correcte du test. L'utilisation du contrôle faible est facultative.

Le test a été correctement effectué si l'extinction moyenne (DO) du contrôle négatif à 450 nm/620 nm est inférieure à 0,05 et si l'extinction moyenne (DO) du calibre se situe dans la plage indiquée sur la fiche technique jointe. Le contrôle élevé doit se situer dans la plage de concentrations spécifique au lot de la fiche de données.

Lorsque le test RIDASCREEN® sIgA est effectué dans des systèmes ELISA ouverts et entièrement automatisés, la valeur DO mesurée du calibre **Calibrator** peut s'écarter de la plage indiquée dans le certificat spécifique au lot du système. Dans les systèmes ELISA entièrement automatisés, la validité des résultats du test dépend du contrôle élevé **High control** qui doit donc être systématiquement testé. Il n'est pas indispensable d'utiliser le contrôle faible **Low control | +**.

Tout écart par rapport aux valeurs requises, toute présence de turbidité ou d'une coloration bleue du substrat incolore avant le remplissage des puits, pourrait indiquer

une dénaturation des réactifs. En cas d'écart par rapport aux valeurs indiquées, les points suivants doivent être contrôlés avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Performances fonctionnelles de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Réalisation correcte du test
- Inspection visuelle des composants de la trousse à la recherche d'une contamination ou de fuites ; une solution de substrat devenue bleue ne doit pas être utilisée.

Si les conditions ne sont toujours pas satisfaites après avoir recommencé le test, consulter le fabricant ou un distributeur R-Biopharm local.

11. Évaluation et interprétation

11.1. Quantification à un point selon la loi log-logistique à 4 paramètres

Le test RIDASCREEN® sIgA utilise la loi log-logistique à 4 paramètres (4PL) pour déterminer la concentration en IgA sécrétoires dans un échantillon de selles (en µg/kg).

Le logiciel d'évaluation RIDA®SOFT Win.net est nécessaire pour calculer les résultats. Le logiciel RIDA®SOFT Win.net ou des mises à jour sont disponibles sur demande auprès de R-Biopharm AG ou de votre distributeur R-Biopharm local. Les paramètres (A - D) requis pour le calcul 4PL de la courbe standard et la valeur cible du calibre, le contrôle élevé et le contrôle faible sont disponibles dans la fiche technique spécifique au lot jointe à la trousse de test. Ils doivent être comparés aux valeurs indiquées dans le logiciel d'évaluation avant la mesure.

R-Biopharm AG calcule la courbe standard (y compris les paramètres A - D) dans des conditions de test optimales pour chaque lot de trousse, ainsi qu'une valeur cible et une plage admissible pour l'écart-type pour le calibre, le contrôle élevé et le contrôle faible.

Le calibre est aussi testé pour compenser les fluctuations du test et vérifier la qualité de la procédure de test. Le contrôle élevé fournit des informations concernant la validité du test.

RIDA®SOFT Win.net calcule le facteur de correction F en interne à partir de la moyenne de la double analyse du calibre et de sa valeur cible. Ce facteur de correction est ensuite rapproché des absorbances des échantillons de selles. Les résultats du test peuvent être évalués en toute confiance et de manière fiable dans les limites de la courbe standard.

D'autres logiciels d'évaluation utilisant la loi log-logistique à 4 paramètres peuvent également être utilisés à la place de RIDA®SOFT Win.net.

11.2. Résultats du test

La plage normale d'IgAs se situe entre 100 et 1 200 µg d'IgAs/g de selles. Si les résultats sont inférieurs à 100 µg d'IgAs/g de selles, les taux d'IgAs des patients sont considérés comme insuffisants. S'ils sont supérieurs à 1 200 µg d'IgAs/g de selles, les taux d'IgAs des patients sont considérés comme élevés.

Nous recommandons à chaque laboratoire d'établir sa propre plage de valeurs standards.

12. Limites de la méthode

La trousse RIDASCREEN® sIgA détecte les épitopes d'IgAs humaines dans les échantillons de selles. Ce test ne permet pas d'établir de corrélation entre la valeur de la moyenne d'extinction mesurée et la gravité des symptômes cliniques. Les résultats obtenus doivent toujours être interprétés conjointement aux signes et symptômes cliniques.

13. Performances

13.1. Sensibilité analytique

La sensibilité analytique a été déterminée en analysant la limite du blanc (LB) avec un total de 210 mesures de solution tampon composée d'un tampon d'extraction et d'un diluant, et en analysant la limite de détection (LD) avec 70 mesures d'un échantillon de contrôle positif. Les résultats sont indiqués dans le tableau 3.

Tableau 3 : Résultats de la sensibilité analytique

| | MV [DO 450/620 nm] | µg/g |
|----|-----------------------|-------|
| LB | 0,003 | - |
| LD | - | 65,07 |

13.2. Précision

La reproductibilité intra et inter-essai du test RIDASCREEN® sIgA a été validée grâce à plusieurs déterminations réalisées sur plusieurs jours, dans des conditions de test optimales. La valeur moyenne (VM), l'écart-type (ET) et le coefficient de variation (CV) ont été calculés à partir des résultats. Les résultats sont présentés dans les tableaux 3 et 4.

Tableau 4 : Reproductibilité intra-essai (n=16)

| | 1. Concentration [600 µg/g] | 2. Concentration [1200 µg/g] |
|-------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|
| VM (ng/ml) | 674 | 1380 |
| ET | 45,6 | 55,80 |
| % CV | 6,8 | 4,0 |

Tableau 5 : Reproductibilité inter-essai (n=8)

| | 1. Concentration [660 µg/g] | 2. Concentration [1500 µg/g] |
|-------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|
| VM (ng/ml) | 677 | 1461 |
| ET | 79,7 | 85,5 |
| % CV | 11,8 | 5,9 |

13.3. Linéarité des résultats de test

Pour contrôler la linéarité du test RIDASCREEN® sIgA, des séries de dilutions de plusieurs échantillons de selles contenant des IgAs ont été préparées. Le poids des échantillons, la suspension et la première dilution des échantillons ont été déterminés conformément aux indications de ce mode d'emploi (voir rubrique 9.4). Les dilutions en série ont ensuite été préparées à l'aide du tampon de dilution d'échantillon RIDASCREEN®

| | |
|---------|---|
| Diluent | 3 |
|---------|---|

.

Les concentrations déterminées à l'aide du test ont été calculées par rapport aux concentrations attendues. Le tableau 5 montre les séries de dilutions de trois échantillons avec différentes concentrations d'IgAs.

Tableau 5 : Détermination de la linéarité des résultats de test

| Échantillon | Dilution | Concentration déterminée (µg/g) | Concentration prévue (µg/g) | Concentration déterminée / prévue |
|-------------|------------|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| 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 | 1 175,00 | | |
| | 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. Historique des versions

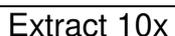
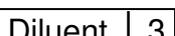
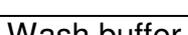
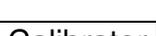
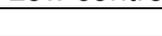
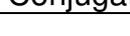
| Numéro de version | Chapitre et désignation |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 2019-02-27 | Révision générale 14. Historique des versions 15. Signification des symboles |

15. Signification des symboles

Symboles généraux

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------|
|  | Pour usage diagnostique <i>in vitro</i> |
|  | Respecter le mode d'emploi |
|  | Numéro de lot |
|  | Date de péremption |
|  | Température de stockage |
|  | Numéro d'article |
|  | Nombre de tests |
|  | Date de fabrication |
|  | Fabricant |

Symboles spécifiques au test

| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------|
|  | Plaque de microtitrage |
|  | Tampon d'extraction et de dilution |
|  | Tampon de dilution d'échantillon |
|  | Solution tampon concentrée 10 fois |
|  | Calibreur |
|  | Contrôle élevé |
|  | Contrôle faible |
|  | Conjugué |
|  | Substrat |
|  | Réactif stop |

16. Bibliographie

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 Immun* 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.