

RIDASCREEN[®] α_1 -Antitrypsin

Réf. G09034



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt,

Tél. : +49 (0) 61 51 81 02-0 / Fax : +49 (0) 61 51 81 02-20



1. Application

Pour usage diagnostique *in vitro*. RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin est un test immunoenzymatique destiné à la détermination quantitative de l' α_1 -antitrypsine dans des échantillons de selles.

2. Résumé et explication du test

Composantes essentielles de l'alimentation, les protéines sont des pièces maîtresses de l'organisme, qui doit être à même de les assimiler, c'est-à-dire de les synthétiser et de les diviser selon les besoins.

Les enzymes protéolytiques, telles que la trypsine et la chymotrypsine, participent au processus de dégradation des protéines. Elles ne digèrent pas seulement la nourriture, elles aident aussi à lutter contre les infections bactériennes et les maladies inflammatoires des voies gastro-intestinales. Les inhibiteurs protéolytiques garantissent l'arrêt de l'activité des enzymes protéolytiques avant qu'elles ne détruisent les tissus sains. L'un des plus importants d'entre eux est la glycoprotéine de 50 kilo-daltons, également appelée alpha₁-antitrypsine (A1AT) ou encore inhibiteur d' α_1 -protéinase. L'A1AT est un inhibiteur primaire qui forme des complexes réversibles avec les protéases sérines, notamment l'élastase des polynucléaires neutrophiles (PMN), la trypsine, la chymotrypsine et les cellules immunitaires inflammatoires actives.

Donc, l'A1AT joue également un important rôle de régulateur sur les processus inflammatoires, en inhibant principalement l'élastase des PMN, une protéase libérée par les leucocytes. L'organisme libère l'élastase des PMN en réponse à des stimuli inflammatoires. Régulatrice de l'activité de la protéase, l' α_1 -antitrypsine garantit que les effets de l'élastase des PMN restent limités en cas d'inflammation, protégeant ainsi les tissus sains de tout dommage protéolytique. L' α_1 -antitrypsine est donc un indicateur utile de l'activité des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Les patients souffrant de la maladie de Crohn, d'une rectocolite hémorragique et d'autres troubles intestinaux, notamment de polypes, d'un cancer du côlon, d'une diverticulite, d'une maladie cœliaque ou d'allergies alimentaires sévères, présentent des taux d' α_1 -antitrypsine très élevés. L'A1AT sert aussi de marqueur fécal de la perte de protéine intestinale et de la perméabilité accrue des muqueuses chez les patients dont la muqueuse intestinale est anormale.

En général, on considère que l' α_1 -antitrypsine est principalement synthétisée dans le foie, mais aussi dans les cellules intestinales, et qu'elle est excrétée dans les fèces sans clivage tripsique ni résorption. Par conséquent, l' α_1 -antitrypsine n'est pas soumise à la dégradation intestinale ; elle est donc bien adaptée à l'utilisation en tant que marqueur de selles.

3. Principe du test

RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin est un test immunoenzymatique (ELISA) en sandwich dédié à l' α_1 -antitrypsine. Les puits de sa plaque de microtitrage sont revêtus d'un anticorps spécifique dirigé contre les épitopes de l' α_1 -antitrypsine humaine.

Une aliquote de suspension fécale à analyser est pipetée dans un puits de la plaque de microtitrage, puis incubée. La plaque est ensuite lavée et incubée une seconde fois avec un anticorps polyclonal anti- α_1 -antitrypsine conjugué à de la peroxydase de raifort. Si de l' α_1 -antitrypsine est présente dans l'échantillon, il se forme un complexe en sandwich composé de l'anticorps immobilisé, de l'antigène de l' α_1 -antitrypsine et de l'anticorps conjugué. Une seconde étape de lavage permet de supprimer les anticorps marqués à l'enzyme non liés. Dans les échantillons positifs à l' α_1 -antitrypsine, l'ajout de solution de substrat produit une liaison enzymatique, qui transforme la solution incolore dans les puits de la plaque en liquide bleu. Après avoir ajouté la solution d'arrêt, la couleur passe du bleu au jaune. L'extinction (densité optique) alors mesurée est proportionnelle à la concentration en α_1 -antitrypsine dans l'échantillon.

4. Réactifs fournis

Chaque trousse contient suffisamment de réactifs pour 96 tests.

Plate	96 tests	Plaque à micropuits ; 12 barrettes de micropuits (sécables) sur un support ; revêtue d'anticorps polyclonaux (lapin) dirigés contre l' α_1 -antitrypsine humaine
Extract 10x	100 ml	Tampon d'extraction/dilution (pour l'extraction et la première dilution de selles) ; solution de NaCl tamponnée au phosphate ; contient 0,1 % de NaN_3 ; concentré 10X
Diluent 3	100 ml	Diluant d'échantillon (pour dilution finale) ; solution de NaCl tamponnée à la protéine ; contient 0,1 % de NaN_3 ; prêt à l'emploi ; rouge
Wash 10x	100 ml	Tampon de lavage ; solution de NaCl tamponnée au phosphate ; contient 0,1 % de thimérosal ; concentré 10X
Calibrator	1 ml	1 étalon ; contient 0,1 % de NaN_3 ; prêt à l'emploi ; capuchon blanc
Control +	1 ml	1 contrôle positif ; contient 0,1 % de NaN_3 ; prêt à l'emploi ; capuchon rouge
Low Control +	1 ml	1 contrôle faiblement positif ; contient 0,1 % de NaN_3 ; prêt à l'emploi ; capuchon vert
Conjugate	12 ml	Anticorps polyclonal (lapin) dirigé contre l' α_1 -antitrypsine conjugué à de la peroxydase dans une solution protéique stabilisée ; prêt à l'emploi ; capuchon rouge
SeroSC	12 ml	Peroxyde d'urée/tétraméthylbenzidine (TMB) ; prêt à l'emploi
Stop	12 ml	Solution d'arrêt ; acide sulfurique 1 N ; prêt à l'emploi

Indication des substances dangereuses conformément à l'obligation d'étiquetage. Pour plus de détails, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) sur www.r-biopharm.com.

5. Instructions de conservation

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 du produit. Après reconstitution, les tampons de lavage et d'extraction dilués peuvent être conservés pendant 4 semaines entre 2 et 8 °C. Éviter toute contamination microbienne ! La qualité du produit ne peut pas être garantie après la date de péremption. Utiliser des ciseaux pour découper et ouvrir le sachet sans endommager le joint d'étanchéité. Remettre immédiatement les barrettes à micropuits inutilisées dans le sachet et les conserver entre 2 et 8 °C. Protéger la solution de substrat incolore de toute exposition directe à la lumière du soleil pour éviter une décomposition et une décoloration (virement au bleu) dues à une auto-oxydation. En cas de décoloration, le substrat doit être éliminé.

6. Matériel requis, mais non fourni

6.1. Réactifs

- Eau distillée ou désionisée

6.2. Équipement

- Tubes à essai
- Pipettes jetables (réf. : Z0001)
- Malaxeur au vortex (facultatif ; voir rubrique 9.4.)
- Micropipettes pour volumes de 50 à 100 µl et 1 ml
- Éprouvette graduée (1000 ml)
- Minuteur
- Appareil de lavage pour microplaques ou pipettes multicanaux (300 µl)
- Photomètre pour microplaques (filtre de référence à 450 nm/620 nm)
- Papier filtre (serviettes de laboratoire)
- Conteneur de déchets contenant 0,5 % de solution d'hypochlorite

7. Précautions

Ce test doit être effectué uniquement par du personnel de laboratoire ayant reçu une formation adéquate. Les recommandations relatives au travail dans les laboratoires médicaux doivent être respectées. Les instructions concernant la réalisation du test doivent être rigoureusement suivies. Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs par voie buccale. Éviter tout contact avec la peau lésée ou les muqueuses. Porter des équipements de protection individuelle (gants en matériau adapté, blouse et lunettes de protection) lors de la manipulation de réactifs et d'échantillons et se laver les mains après le test. Ne pas fumer, manger ou boire dans les locaux où des échantillons sont manipulés.

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

Exclusivement réservé au diagnostic *in vitro*.

Ce test est exclusivement réservé à un usage professionnel. Les règles de bonnes pratiques médicales en laboratoire doivent être appliquées. Il est conseillé de respecter les instructions de test à la lettre.

L'étalon, le contrôle positif et le contrôle faiblement positif contiennent des composants à base de sang humain qui ont été testés négatifs à une infection au VIH et à l'hépatite. Ces composants et les échantillons de selles doivent toutefois être traités comme des substances potentiellement infectieuses et manipulés conformément aux règlements de sécurité nationaux.

Ne pas pipeter les échantillons ou les réactifs à la bouche et éviter tout contact entre les réactifs et une peau ou des membranes muqueuses lésées. Porter des gants jetables pour manipuler les échantillons et se laver les mains après achèvement du test. Ne pas fumer, manger ni boire dans les zones où des échantillons ou des réactifs sont utilisés.

Le tampon de lavage contient du thimérosal à 0,1 % comme conservateur. Éviter tout contact avec la peau et les membranes muqueuses.

L'étalon, le contrôle positif, le contrôle faiblement positif, le tampon d'extraction et le diluant d'échantillon contiennent 0,1 % de NaN_3 . Éviter tout contact avec la peau et les membranes muqueuses.

Le substrat contient du peroxyde d'urée/TMB qui peut provoquer des brûlures. Le manipuler avec prudence !

La solution d'arrêt contient de l'acide sulfurique 1 N. Éviter tout contact avec la peau et les vêtements ! La peau exposée à la substance doit être rincée à 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 1 heure. AVERTISSEMENT : Pour éviter la formation de gaz toxiques, tout déchet liquide contenant de la solution d'arrêt doit être neutralisé avant d'être éliminé dans une solution d'hypochlorite.

Tous les réactifs et les matériels doivent être éliminés après usage de manière appropriée et responsable. Lors de l'élimination, veuillez respecter les dispositions nationales en vigueur!

8. Prélèvement et conservation des échantillons

Tous les échantillons à analyser doivent être conservés entre 2 et 8 °C jusqu'à leur traitement. S'ils ne peuvent pas être traités dans les 3 jours, ils doivent être congelés à -20 °C ou une température inférieure. Les cycles de congélation et décongélation répétés doivent être évités. Les échantillons de selles ou les couches ne doivent pas être recueillis dans des conteneurs de transport utilisant des milieux de transport contenant des conservateurs, du sérum animal, des ions métal, des agents oxydants ou des détergents, car ces substances peuvent interférer avec le test RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin.

9. Procédure de test

9.1. Informations générales

Laisser les réactifs de la trousse et la microplaque **Plate** revenir à température ambiante (20 - 25 °C) avant utilisation. Ne pas retirer les barrettes à micropuits du sachet avant qu'elles ne soient à température ambiante. Bien mélanger les réactifs juste avant emploi. Remettre toutes les barrettes à micropuits inutilisées dans leur sachet et placer les réactifs au réfrigérateur entre 2 et 8 °C. Une fois la barrette à micropuits utilisée, elle ne peut pas être réutilisée. Ne pas utiliser les réactifs et les barrettes à micropuits si l'emballage est endommagé ou si les flacons ne sont pas fermés hermétiquement. Pour éviter toute contamination croisée, ne pas laisser les échantillons à analyser entrer en contact avec les composants de la trousse.

Ne pas réaliser le test à la lumière directe du soleil. La microplaque doit être recouverte ou tapotée pendant le test pour éviter toute perte par évaporation.

REMARQUE : L'étalon et le contrôle positif **doivent** être testés avec chaque lot d'échantillons. Le contrôle faiblement positif peut être testé avec le lot, si nécessaire.

9.2. Préparation du tampon de lavage

Mélanger 1 volume de concentré de tampon de lavage **Wash 10x** avec 9 volumes d'eau distillée. Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être dissouts en réchauffant le flacon dans un bain d'eau chaude (à 37 °C) avant reconstitution.

9.3. Préparation du tampon d'extraction

Mélanger 1 volume de concentré de tampon d'extraction **Extract 10x** avec 9 volumes d'eau distillée (1:10). Les cristaux éventuellement présents dans le concentré doivent être dissouts en réchauffant le flacon dans un bain d'eau chaude (à 37 °C) avant reconstitution.

9.4. Préparation de l'échantillon

9.4.1. Pesée et mise en suspension des échantillons

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

Il est également possible de placer entre 80 et 130 mg d'échantillon de selles dans le tube à essai, puis d'ajouter ou de retirer un volume proportionnel de tampon d'extraction dilué (voir tableau 1) de l'échantillon (pour conserver un rapport de dilution constant).

Tableau 1 : Volume de tampon d'extraction dilué requis en fonction du poids de l'échantillon de selles

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

Quelle que soit la méthode de pesée, tous les échantillons de selles sont homogénéisés en les mélangeant bien sur un malaxeur au vortex. Si les selles sont liquides, aspirer **précisément** 100 µl de l'échantillon dans une pipette et les mettre en suspension dans **exactement** 5 ml de tampon d'extraction dilué.

Ensuite, l'échantillon homogénéisé **doit** être centrifugé à 3000 g au moins pendant 10 minutes pour garantir la sédimentation de grosses particules fécales.

9.4.2. Dilution manuelle de l'échantillon

Diluer 50 µl de surnageant transparent dans 950 µl de tampon d'extraction dilué, puis passer au vortex (1:20). La dilution finale de l'échantillon est ensuite réalisée en diluant 50 µl de la première dilution dans 950 µl de RIDASCREEN® Sample Diluent **Diluent 3** (1:20), puis en passant au vortex. Cette dilution finale de l'échantillon de selles est utilisée pour le test (voir rubrique 9.5.).

9.4.3. Dilution automatique de l'échantillon

Les opérateurs réalisant le test sur le système DSX-ELISA entièrement automatisé de Dynex **peuvent réaliser les étapes de dilution d'échantillon suivantes**. Comme pour la dilution manuelle, le surnageant **doit** être exempt de particules pour la dilution automatisée de l'échantillon. Les opérateurs équipés d'autres systèmes de pipetage automatisés ELISA doivent contacter R-Biopharm pour obtenir des instructions.

Le système ELISA pipette automatiquement 25 µl de surnageant dans une plaque à puits profonds, puis les diluent dans 975 µl de tampon d'extraction dilué (1:40). Deux cycles de mélange sont ensuite réalisés.

Le nombre de puits revêtus requis est placé dans le support de la microplaque RIDASCREEN® α₁-Antitrypsin **Plate**.

Ensuite, une aliquote de 10 µl d'échantillon dilué est retirée de la plaque à puits profonds et transférée dans la microplaque RIDASCREEN® α₁-Antitrypsin **Plate**, puis de nouveau diluée dans 90 µl de diluant d'échantillon RIDASCREEN® **Diluent 3** (1:10).

9.5. Première incubation

Après avoir introduit le nombre souhaité de puits revêtus dans le support de micropuits, 100 µl d'étalon **Calibrator** (en double), 100 µl de diluant d'échantillon **Diluent 3** (= contrôle négatif), 100 µl de contrôle positif **Control +** et 100 µl de l'échantillon de selles dilué sont ajoutés dans les puits correspondants. 100 µl de contrôle faiblement positif **Low Control +** peuvent être testés avec le lot, **si nécessaire**. La plaque est ensuite incubée à température ambiante (20 - 25 °C) pendant 1 heure.

9.6. Premier lavage

Comme le lavage complet est essentiel pour obtenir des résultats de test corrects, il est primordial d'en respecter les instructions à la lettre. Tout d'abord, décanter les solutions incubées dans les micropuits dans un conteneur de déchets contenant une solution d'hypochlorite à des fins de désinfection. Ensuite, tapoter la microplaque sur du papier absorbant pour éliminer le liquide restant, puis laver la plaque cinq fois avec 300 µl de tampon de lavage par étape de lavage. Tapoter la plaque sur un morceau de papier absorbant sec et inutilisé après chaque étape de lavage pour garantir le retrait complet des liquides.

Lorsqu'un laveur automatique est utilisé, vérifier qu'il est correctement configuré par rapport au type de plaque de microtitrage utilisée. Les suspensions d'échantillons de selles qui comportent des particules doivent être homogénéisées manuellement dans les puits avant la première étape de lavage pour éviter d'obstruer les aiguilles de lavage. Au cours des étapes de lavage, il est important de s'assurer que les solutions sont entièrement éliminées. Après la dernière étape de lavage, tapoter la plaque sur un papier absorbant ou une serviette de laboratoire propre pour s'assurer que l'ensemble des résidus humides est éliminé.

9.7. Seconde incubation

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

9.8. Second lavage

Après la seconde incubation, laver la plaque cinq fois avec 300 µl de tampon de lavage par étape de lavage. Tapoter la plaque sur un morceau de papier absorbant sec et inutilisé après chaque étape de lavage pour garantir le retrait complet des liquides.

9.9. Troisième incubation

Ajouter 100 µl de solution de substrat **SeroSC** dans chaque puits et laisser la plaque incuber dans l'obscurité à température ambiante (20 - 25 °C) pendant 15 minutes. Ensuite, ajouter 50 µl de solution d'arrêt **Stop** dans chaque puits pour arrêter la réaction (bien mélanger en tapotant délicatement la plaque à la main) et mesurer l'extinction/la densité optique (DO) dans chaque puits à une longueur d'onde de 450 nm (longueur d'onde de référence : 620 nm).

REMARQUE : Les résultats très positifs peuvent entraîner la formation d'un précipité noir dans la solution de substrat.

10. Contrôle qualité – Signes de détérioration du réactif

Tester l'étalon (en double), le contrôle positif et le contrôle faiblement positif, si nécessaire, avec chaque lot d'échantillons de patient pour garantir la qualité du réactif et les performances du test. Le test s'est correctement déroulé si l'extinction (DO) des contrôles se situe dans les plages indiquées sur la fiche technique de chaque lot, fournie avec la trousse. Si les valeurs mesurées sont hors plages cibles, les variables suivantes doivent être contrôlées avant de recommencer le test :

- Date de péremption des réactifs utilisés
- Capacité de fonctionnement de l'équipement utilisé (par ex. étalonnage)
- Performances correctes de la procédure de test
- Inspection visuelle des composants de la trousse à la recherche d'une contamination ou de fuites ; la solution de substrat ne doit pas être utilisée si elle est décolorée (bleue)

Si les conditions de qualité 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 quatre paramètres

Le test RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin ELISA a recours à la loi log-logistique à quatre paramètres (4PL) pour déterminer la concentration en α_1 -antitrypsine dans les selles, en $\mu\text{g/g}$.

Le logiciel d'analyse RIDA®SOFT Win est nécessaire pour calculer les résultats du test. RIDA®SOFT Win ou une mise à jour sont disponibles auprès de R-Biopharm AG ou du distributeur R-Biopharm local.

Les quatre paramètres (A - D) de la courbe d'étalonnage requis pour les calculs 4PL et les valeurs théoriques de l'étalon, du contrôle positif et du contrôle faiblement positif sont répertoriés sur la fiche technique spécifique au lot jointe à la trousse et **doivent être comparés aux valeurs indiquées dans le logiciel d'analyse avant chaque mesure.**

R-Biopharm AG détermine la courbe d'étalonnage (y compris les paramètres A - D), ainsi que la valeur théorique et les plages d'écart-type autorisées pour l'étalon, le contrôle positif et le contrôle faiblement positif dans des conditions de test optimales pour chaque lot de trousse. L'étalon est utilisé à des fins d'analyse quantitative des échantillons. Le contrôle positif et le contrôle faiblement positif sont utilisés à des fins de validation interne du test au sein d'un laboratoire donné.

RIDA®SOFT Win calcule un facteur de correction F à partir de la valeur moyenne de la détermination en double de l'étalon et de sa valeur théorique, celui-ci étant rapproché des valeurs d'extinction (DO) pour les échantillons de selles. L'évaluation des résultats de test est sûre et fiable sur la plage de la courbe d'étalonnage.

Un autre logiciel d'analyse utilisant la loi log-logistique à 4 paramètres peut également être utilisé en tant qu'alternative au RIDA®SOFT Win.

11.2. Résultats du test

Les valeurs mesurées au-dessous de la valeur seuil de 400 $\mu\text{g/g}$ d' α_1 -antitrypsine dans les selles sont interprétées comme négatives. Nous recommandons à chaque

laboratoire d'établir sa propre plage de valeurs standard.

12. Limites de la méthode

Le test RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin ELISA détecte les épitopes d' α_1 -antitrypsine dans les échantillons de selles. Ce test ne permet pas d'établir de corrélation entre les valeurs d'extinction (DO) mesurées et la gravité des symptômes cliniques. **Les résultats de test doivent toujours être interprétés conjointement aux signes et symptômes cliniques.**

13. Performances

13.1. Qualité du test

Dans une étude menée par un laboratoire indépendant, la sensibilité et la spécificité du test RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin ELISA ont été testées sur 153 échantillons de selles et comparées à celles d'un test immunochimiluminométrique correspondant (α_1 -antitrypsin ILMA) utilisé ici en routine. D'après les résultats de l'étude, les performances sont les suivantes :

Sensibilité : 96.3%

Spécificité : 83.0%

13.2. Limite de détection

La limite de détection du test RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin ELISA a été calculée en ajoutant B_0 à deux fois l'écart-type de B_0 . B_0 correspond à la moyenne de plusieurs déterminations (n=36) du contrôle négatif (Diluent | 3).

La limite de détection de l' α_1 -antitrypsine dans les selles s'est avérée de 30,8 $\mu\text{g/g}$.

13.3. Linéarité des résultats de test

La dilution en série de plusieurs échantillons de selles positifs et négatifs à l' α_1 -antitrypsine a servi à valider la linéarité du test RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin ELISA. La pesée et la mise en suspension des échantillons, ainsi que la première étape de dilution, ont été réalisées conformément aux indications de cette notice (voir rubrique 9.4.). Les dilutions en série graduées ont ensuite été préparées à l'aide du diluant d'échantillon RIDASCREEN® Diluent | 3. L'extinction (DO) de chaque concentration a été rétro-calculée pour obtenir les concentrations de départ à l'aide du facteur de dilution correspondant. La dilution en série d'un échantillon positif à l' α_1 -antitrypsine et d'un échantillon négatif à l' α_1 -antitrypsin représentatif est présentée dans le

Tableau 2.

Tableau 2 : Détermination de la linéarité des résultats de test

Dilution	RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin	
	Échantillon positif [$\mu\text{g/g}$ de selles]	Échantillon négatif [$\mu\text{g/g}$ de selles]
1:12500	526	241
1:20000	484	235
1:25000	525	255
1:30000	518	252
Moyenne	513	246
ET	19,8	9,4
CV %	3,9	4,8

13.4. Précision

La reproductibilité intra et inter-test de RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin ELISA a été validée grâce à plusieurs déterminations réalisées sur plusieurs jours, dans des conditions de test optimales. Les résultats sont présentés dans les tableaux 3 et 4.

Tableau 3 : Reproductibilité intra-test (n=20)

Intra-test	RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin	
	Concentration 1 [10 ng/ml]	Concentration 2 [30 ng/ml]
Moyenne (DO)	0,404	1,081
ET	0,020	0,051
CV %	4,9	4,8

Tableau 4 : Reproductibilité inter-test (n=16)

Inter-test	RIDASCREEN® α_1 -Antitrypsin	
	Concentration 1 [10 ng/ml]	Concentration 2 [30 ng/ml]
Moyenne (DO)	0,409	1,080
ET	0,032	0,057
CV %	7,9	5,3

14. Bibliographie

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.