

# RIDASCREEN<sup>®</sup> $\alpha_1$ -Antitrypsin

Код: G09034



R-Biopharm AG, An der neuen Bergstraße 17, D-64297 Darmstadt,  
Tel.: +49 (0) 61 51 81 02-0 / Telefax: +49 (0) 61 51 81 02-20



## 1. Предназначение набора

Для диагностики *in vitro*. Набор RIDASCREEN®  $\alpha_1$ -antitrypsin это ферментный иммуноанализ для количественного определения  $\alpha_1$ -антитрипсина в образцах стула человека.

## 2. Общая информация и пояснения к тесту

Белки являются основными составляющими пищи и основными строительными блоками организма. Организм должен быть в состоянии перерабатывать белки, то есть синтезировать и расщеплять их по мере необходимости.

Протеолитические ферменты, такие как трипсин и химотрипсин помогают в процессе расщепления белков. Протеолитические ферменты не только переваривают пищу, но и противостоят бактериальным инфекциям и воспалительным заболеваниям желудочно-кишечного тракта. Протеолитические ингибиторы способствуют тому, чтобы действие протеолитических ферментов останавливалось до того, как они начнут разрушать здоровые ткани. Одним из наиболее важных ингибиторов протеолитических ферментов является гликопротеин с массой 50 кДа, известный как альфа1-антитрипсин alpha1-antitrypsin (A1AT), или по-другому - $\alpha_1$ -ингибитор протеиназ. A1AT это первичный ингибитор, который формирует обратимые комплексы с сериновыми протеазами, такими как полиморфно-ядерный нейтрофил (PMN), эластаза, трипсин, химотрипсин и активные иммунные клетки воспаления.

Таким образом, A1AT так же обладает важным регуляторным эффектом при воспалительных процессах, первично ингибируя PMN эластазу, протеазу, выделяемую лейкоцитами. Организм вырабатывает PMN эластазу в ответ на воспалительные стимулы. Как регулятор протеазной активности,  $\alpha_1$ -антитрипсин обеспечивает эффект того, что PMN эластаза остаётся в определённой мере ограниченной при воспалении, тем самым защищая здоровые ткани от протеолитического разрушения.

Это делает  $\alpha_1$ -антитрипсин полезным индикатором активности при хронических воспалительных заболеваниях кишечника. Пациенты с болезнью Крона, язвенными колитами и другими заболеваниями, такими как полипы, рак кишечника, дивертикулиты, целиакия или тяжкие пищевые аллергии, проявляют резкое повышение уровня  $\alpha_1$ -антитрипсина. A1AT так же используется, как фекальный маркер потери интестинальных белков и увеличения слизистой проницаемости у пациентов с повреждениями слизистых кишечника.

Как правило, предполагается, что  $\alpha_1$ -антитрипсин изначально синтезируется в печени, а так же в клетках кишечника, и что он выделяется с калом без расщепления трипсином или резорбции. Таким образом,  $\alpha_1$ -антитрипсин не подвергается кишечной деградации и потому может служить как маркер стула.

## 3. Принцип тестирования

RIDASCREEN®  $\alpha_1$ -Antitrypsin это  $\alpha_1$ -антитрипсин-специфический фермент-связывающий иммуносорбентный анализ по типу сэндвича (ELISA). Лунки

микроплашек покрыты специфическими антителами, направленными к эпитопам  $\alpha$ 1-антитрипсина человека.

Аликвоту суспензии образца кала вносят в лунку микроплашки и инкубируют. Затем плашку отмывают и инкубируют второй раз с поликлональными анти- $\alpha$ 1-антитрипсиновыми антителами, конъюгированными с пероксидазой хрена. Если  $\alpha$ 1-антитрипсин присутствует в образце, это приводит к формированию сэндвич-комплекса, состоящего из иммобилизованных антител, антигена  $\alpha$ 1-антитрипсина и конъюгированных антител. Второй этап промывки выполняется для того, чтобы удалить несвязавшиеся антитела, меченные ферментом. В образцах, положительных на  $\alpha$ 1-антитрипсин, добавление субстрата приводит к связыванию фермента и превращения бесцветного раствора в лунках в жидкость голубого цвета. После добавления стоп-раствора, цвет меняется из голубого в жёлтый. Измеренная после этого экстинкция (оптическая плотность) пропорциональна концентрации  $\alpha$ 1-антитрипсина в образце.

#### 4. Поставляемые реагенты

Компонентов набора достаточно для выполнения 96 определений

<b>Plate</b> (Плашка)	96 лунок	Микротитровальная плашка; 12 микролуночных стрипов (разборных) в стрип-холдере; сорбированные поликлональными антителами (кроличьими) $\alpha$ 1-антитрипсину человека
<b>Extract 10x</b> Экстракт	100 мл	Буфер для экстракции/дильюции (для экстракции и первичного разведения образцов стула); Фосфатно-буферный раствор NaCl, содержит 0,1 % $\text{NaN}_3$ ; (10-кратный)
<b>Diluent   3</b> Дильюент	100 мл	Буфер для образцов (для конечного разведения), белково-буферный раствор NaCl, содержит 0,1 % $\text{NaN}_3$ , готовый к работе, красного цвета
<b>Wash 10x</b> Промывочный раствор	100 мл	Буфер для промывки, Фосфатно-буферный раствор NaCl, содержит 0.1% мертиолят; 10-кратный концентрат
<b>Calibrator</b> Калибратор	1 мл	1 Калибратор; содержит 0,1 % $\text{NaN}_3$ , готовый к работе, белая крышка
<b>Control   +</b>	1 мл	1 положительный контроль; содержит 0,1 % $\text{NaN}_3$ , готовый к работе, красная крышка
<b>Low control   +</b>	1 мл	1 слабо положительный контроль; содержит 0,1 % $\text{NaN}_3$ , готовый к работе, зелёная крышка
<b>Conjugate</b> Конъюгат	12 мл	Конъюгированные пероксидазой, поликлональные антитела $\alpha$ 1-антитрипсину человека (кроличьи) в стабилизированном белковом растворе; готов к работе, красная крышка
<b>SeroSC</b>	12 мл	Перекись мочевины/тетраметилбензидин (TMB); готовы к работе
<b>Stop</b>	12 мл	Стоп-реагент; 1 Н серная кислота, готовая к работе

Сведения об опасных веществах в соответствии с требованиями к маркировке. Для получения дополнительной информации см. сведения о безопасности материалов (MSDS) на веб-сайте [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

## 5. Инструкции по хранению

Все реагенты должны храниться при 2 – 8 °С и могут быть использованы после открывания до истечения срока годности, указанного на этикетках реагентов. Растворённый промывочный буфер и буфер для экстракции должны быть использованы в течение 4 недель, при условии, что хранятся при 2 - 8°С. Следует опасаться микробной контаминации. Гарантия качества не сохраняется после окончания срока годности. Упаковка из фольги, в которой находятся микроплашки, должна быть открыта ножницами таким образом, чтобы не повредился закрывающий зажим. Неиспользованные микролунки надо сразу же вернуть назад в эту упаковку, и они должны храниться в этой упаковке при 2 - 8 °С. Бесцветный раствор субстрата должен быть защищён от попадания прямого света, для защиты от саморазложения или перехода в голубой цвет (из-за самоокисления). Если субстрат становится голубым, его нельзя использовать.

## 6. Материалы необходимые, но не поставляемые

### 6.1. Реагенты

- Дистиллированная или деионизованная вода

### 6.2. Дополнительные материалы

- Тестовые пробирки

- Одноразовые пипетки (Код: Z 0001)

Вортекс-миксер (по усмотрению 9.4.)

Микропипетки на объёмы 50-100 µл и 1 мл

Мерный цилиндр (1000 мл)

Таймер

Плашечный промыватель или многоканальная пипетка 300 мкл

Плашечный считыватель (450 нм, референсная длина волны  620 нм)

Фильтровальная бумага (лабораторные полотенца)

Контейнер для отходов с 0.5 % раствором гипохлорита

## 7. Предупреждения для пользователей

Только для диагностики *in vitro*.

Данный тест должен выполняться только обученным лабораторным персоналом. Необходимо соблюдать рекомендации по методам работы в медицинских лабораториях. Необходимо соблюдать руководство с инструкциями по процедуре теста. Не допускайте попадания проб или реагентов в рот. Избегайте контакта с поврежденной кожей или слизистыми оболочками. Во время работы с реагентами либо пробами надевайте соответствующие средства защиты (перчатки, лабораторный халат, защитные очки) и мойте руки после завершения процедуры теста. Не курите, не ешьте и не пейте в зонах, где ведется работа с пробами или реагентами.

Для получения дополнительной информации см. сведения о безопасности материалов (MSDS) на веб-сайте [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com)

Калибратор, положительный контроль и слабо положительный контроль содержат компоненты крови человека и были протестированы на ВИЧ и гепатиты и показали отрицательные результаты. Но, тем не менее, с ними и с образцами стула следует обращаться, как с потенциально инфекционным материалом, и соблюдать все меры предосторожности, согласно местным правилам по работе с инфекционными материалами.

В промывочном буфере в качестве консерванта содержится 0.1 % мертиолят. Следует не допускать контактов кожи и слизистых с этим веществом.

Калибратор, Положительный Контроль, Слабо Положительный Контроль, Буфер для Экстракции и для разведения образцов в качестве консерванта содержат 0.1 %  $\text{NaN}_3$ . Следует не допускать контактов кожи и слизистых с этим веществом.

В субстрате содержится пероксид мочевины/ТМБ, который может вызвать ожоги. Поэтому с ним следует обращаться, соблюдая все меры предосторожности.

Стоп-реагент содержит 1 Н М серную кислоту. Избегайте контакта с кожей и одеждой. Если стоп-реагент попал на кожу, его необходимо смыть водой.

Все реагенты и материалы, находившиеся в контакте с потенциально инфекционными образцами, должны быть обработаны доступными дезинфектантами или автоклавированы при 121 °С в течение 1 часа. ВНИМАНИЕ: во избежание образования ядовитых газов, все жидкие отходы, содержащие стоп-реагент, перед внесением в раствор гипохлорита, должны быть нейтрализованы. Все использованные реагенты и материалы должны утилизироваться надлежащим образом. Для получения дополнительной информации об утилизации см. соответствующие национальные требования.

## 8. Сбор и хранение образцов

Все образцы следует хранить при 2 - 8 °С. Если они не взяты в работу в течение 3-х дней, их надо заморозить и хранить при -20 °С или ниже. Избегайте повторных замораживаний и оттаиваний. Образцы стула и ректальные мазки не следует собирать в транспортировочные контейнеры с транспортной средой с консервантами, сыворотками животных, ионами металлов, окисляющими агентами или детергентами, поскольку они могут интерферировать с RIDASCREEN®  $\alpha$ 1-antitrypsin.

## 9. Ход работы

### 9.1. Общая информация

Все реагенты и микроплашки [Plate] перед работой следует довести до комнатной температуры (20 – 25 °С). Стрипы должны находиться в упаковке из фольги, пока не дойдут до комнатной температуры и только после этого их можно извлечь из упаковки. Перед использованием тщательно перемешайте реагенты. По окончании работы стрипы (в плотно закрытой упаковке) и реагенты необходимо немедленно поместить в холодильник и хранить при 2 - 8 °С. Микролунки могут быть использованы только один раз. Нельзя использовать реагенты и стрипы, если упаковка повреждена или произошла утечка реагентов из флаконов. Во избежание перекрёстной контаминации, образцы должны быть защищены от прямого контакта с компонентами набора.

Тестирование не следует выполнять при прямом попадании солнечного света. Следует накрывать плашку, чтобы избежать потерь при испарении.

**ВНИМАНИЕ:** Калибратор и Положительный Контроль **должны** тестироваться с каждой партией образцов. Слабо Положительный Контроль используется по усмотрению.

### 9.2. Подготовка промывочного буфера

1 часть концентрированного буфера для промывки [Wash|10x] разводится в 9 частях дистиллированной воды. Если в концентрированном растворе присутствуют кристаллы, их надо растворить, нагревая на водяной бане при 37 °С.

### 9.3. Подготовка буфера для экстракции

1 часть концентрированного буфера для экстракции [Extract |10x] разводится в 9 частях дистиллированной воды (1:10). Если в концентрированном растворе присутствуют кристаллы, их надо растворить, нагревая на водяной бане при 37 °С.

## 9.4. Подготовка образцов

### 9.4.1. Взвешивание и ресуспендирование образцов

Взвесьте 100 мг образца стула в маркированную тестовую пробирку, и, используя пипетку, добавьте 5 мл разбавленного буфера для экстракции (1:50).

Как альтернатива: от 80 до 130 мг образца можно взвесить и ресуспендировать в соответственно уменьшенном или увеличенном объеме (см. Таблицу 1) разбавленного буфера для экстракции (степень разведения должна быть постоянна).

Таблица 1: Необходимые объемы разбавленного буфера для экстракции в зависимости от навески образца стула

Масса (мг)	Объем (мл)
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

Суспензию стула тщательно гомогенизируют на вортексе-миксере, независимо от способа взятия навески образца. Если образец стула в жидкой форме, при помощи пипетки отберите **точно** 100  $\mu$ л и ресуспендируйте **точно** в 5 мл разбавленного буфера для экстракции.

После чего, гомогенная суспензия **должна** быть отцентрифугирована при 3000 g в течение 10 минут, для того чтобы осадить крупные частицы стула.

### 9.4.2. Мануальное разведение образцов

Разбавьте 50  $\mu$ л прозрачного супернатанта в 950  $\mu$ л разбавленного буфера для экстракции и вортексируйте. (1:20). Конечное разведение образца достигается дальнейшим разбавлением 50  $\mu$ л первичного разведения в 950  $\mu$ л RIDASCREEN® Sample Diluent **Diluent | 3** (1:20) и перемешивании на вортексе. Это конечное разведение образца стула используется далее для тестирования. (См. п. 9.5)

### 9.4.3. Автоматическое разведение образцов

Пользователи, выполняющие анализ на полностью автоматизированной системе DSX-ELISA system от Dynex, **могут применять следующий этап разведения образцов**. Как при мануальном разведении, супернатант, не содержащий видимые

частицы **должен** использоваться для разведения образцов. Пользователи других автоматизированных пипетирующих систем, должны обратиться на R-Biopharm для получения инструкций.

Системы ELISA автоматически вносят по 25  $\mu$ л супернатанта в плашки с глубокими лунками, в которых происходит разведение в 975  $\mu$ л разбавленного буфера для экстракции (1:40). Последовательно выполняются два смешивающих цикла.

Требуемое количество сорбированных лунок помещают в холдер микроплашки RIDASCREEN®  $\alpha_1$ -Antitrypsin **Plate**.

Далее 10- $\mu$ л аликвоты разбавленных образцов извлекают из плашек с глубокими лунками и переносят их в RIDASCREEN®  $\alpha_1$  -Antitrypsin microwell plate **Plate** используя для последующего 90  $\mu$ л of RIDASCREEN® Sample Diluent **Diluent**[3] (1:10).

#### 9.5. Первая инкубация

Вставьте необходимое для исследования количество лунок в рамку, внесите по 100  $\mu$ л калибратора **Calibrator** (в дублях), 100  $\mu$ л буфера для разведения образцов **Diluent | 3** в качестве отрицательного контроля (= Negative control), 100  $\mu$ л положительного контроля **Control | +** и 100  $\mu$ л суспензии стула в соответствующие лунки. По 100  $\mu$ л слабо положительного контроля **Low control | +**, на партию, можно использовать **при необходимости**. Затем инкубируйте плашку в течение 1 часа при комнатной температуре (20-25 °C).

#### 9.6. Первая промывка

Тщательная промывка очень важна для получения правильных результатов, она должна быть выполнена при строгом соблюдении соответствующих инструкций. Вещества, инкубированные в лунках, сливаются для дезинфекции в контейнер для отходов, содержащий гипохлорит. После чего, промакните плашку на фильтровальной бумаге, чтобы удалить остатки жидкости.

Далее, промойте плашку 5 раз, используя каждый раз по 300  $\mu$ л разбавленного буфера для промывки. Убедитесь, что лунки полностью опустошены, промакивая их на сухой и чистой фильтровальной бумаге после каждого шага.

**Если используется автоматический промыватель, выберите правильный протокол промывки для типа используемой плашки. Суспензии образцов стула, в которых ещё остались крупные частички стула, перед первой промывкой нужно извлечь из лунок вручную, чтобы не допустить забивания промывочных иглонок. А так же убедитесь, что вся жидкость полностью отсасывается из лунок на каждом этапе промывки. После последней промывки промакните плашку на чистой фильтровальной бумаге или лабораторном полотенце, чтобы полностью удалить остатки влаги.**

#### 9.7. Вторая инкубация

Внесите в каждую лунку по 100  $\mu$ л конъюгата **Conjugate**. Инкубируйте плашку при комнатной температуре (20 - 25 °C) в течение одного часа.



## 9.8. Вторая промывка

По истечении времени второй инкубации, промойте плашку 5 раз, используя каждый раз по 300  $\mu$ л разбавленного буфера для промывки. Убедитесь, что лунки полностью опустошены, промокая их на сухой и чистой фильтровальной бумаге после каждого шага.

## 9.9. Третья инкубация

Добавьте в каждую лунку по 100  $\mu$ л субстрата **SeroSC**. Потом инкубируйте плашку при комнатной температуре (20 - 25 °C) в затемнении в течение 15 минут. После чего остановите реакцию, добавив по 50  $\mu$ л стоп-реагента **Stop** в каждую лунку. Тщательно смешайте (легко потряхивая плашку за уголок) и учтите экстинкцию/оптическую плотность (ОП) при 450 нм, (используя в качестве референсной длины волны – 620 нм).

**ВНИМАНИЕ: В резко положительных образцах может появляться чёрный преципитат из субстратного раствора.**

## 10. Контроль качества – признаки нестабильности или порчи реагентов

Калибратор (в дублях), Положительный Контроль и Слабо положительный Контроль при необходимости, должны использоваться каждый раз при тестировании одновременно для того чтобы убедиться, что реагенты стабильны и тестирование выполнено правильно. Тестирование считается выполненным правильно, если экстинкция (ОП) контролей вписывается в пределы, установленные в индивидуальной для каждого лота спецификации.

Если полученные значения не вписываются в предусмотренные пределы, то перед повторным тестированием необходимо проверить следующие моменты:

- Срок годности используемых реагентов
- Работоспособность используемого оборудования (например, калибровка)
- Правильность хода работы
- Визуальная проверка компонентов набора на отсутствие контаминации или протекания реагентов – раствор хромогена, который стал голубым, нельзя использовать для тестирования.

Если и после повторного тестирования с соблюдением всех выше перечисленных условий, результаты не удовлетворяют требованиям, пожалуйста, свяжитесь с Вашим местным представителем R-Biopharm.

## 11. Оценка и интерпретация результатов

11.1. Количественный учёт выполняется по одной точке в соответствие с 4-х параметровым - logistic-log-методом.

RIDASCREEN<sup>®</sup>  $\alpha$ 1-Antitrypsin ELISA использует 4-х параметровый logistic-log-метод (4PL) для расчёта концентрации  $\alpha$ 1- антитрипсина в стуле, в единицах –  $\mu$ г/г.

Для определения результатов необходимо программное обеспечение RIDA<sup>®</sup>SOFT Win. RIDA<sup>®</sup>SOFT Win или его обновления можно получить от R-Biopharm AG или у Вашего местного дистрибьютора.

Как 4 параметра (A - D) стандартного графика, требуемые для 4PL расчёта, так и установления точек калибратора, положительного контроля и слабо положительного контроля, перечисленные в индивидуальных для каждого лота спецификациях, поставляемых вместе с набором, **должны быть сравнены со значениями, указанными в софте, перед каждым учётом результатов.** Учёт необходимо проводить, принимая во внимание соответствующую информацию из спецификаций. R-Biopharm AG определил стандартный график (включая параметры A - D), а так же контрольные точки и пределы калибратора, положительного контроля и слабоположительного контроля при оптимальных для каждой серии наборов условиях.

Калибратор используется для количественного анализа образцов. Положительный Контроль и Слабо Положительный Контроль применяются для внутренней валидации теста в пределах данной лаборатории.

RIDA<sup>®</sup>SOFT Win рассчитывает корректирующий фактор F по средним значениям определяемых в дублях калибраторов, и контрольных точек и согласовывается с экстинкциями (ОП) образцов стула. Безопасная и надёжная оценка результатов тестирования может быть выполнена только в пределах стандартного графика.

Другие программы, позволяющие выполнять учёт по 4 параметрам logistic-log методу, так же могут быть использованы в качестве альтернативы RIDA<sup>®</sup>SOFT Win.

#### 11.2. Результаты теста

При оценке по значению cut-off, результаты до 400 мкг/г  $\alpha_1$ -антитрипсина в стуле, считаются отрицательными.

Мы рекомендуем устанавливать стандартные значения индивидуально в каждой лаборатории.

## 12. Ограничения метода

Набор RIDASCREEN<sup>®</sup>  $\alpha_1$ -Antitrypsin ELISA выявляет эпитопы  $\alpha_1$ -антитрипсина в образцах стула. Тест не может быть использован для установления взаимосвязи между определённой экстинкцией и степенью проявления клинических симптомов. **Полученные результаты всегда должны интерпретироваться совместно с клинической картиной и симптомами.**

## 13. Технические характеристики

### 13.1. Качество теста

Набор RIDASCREEN<sup>®</sup>  $\alpha_1$ -Antitrypsin ELISA был протестирован для определения чувствительности и специфичности на 153 образцах стула при независимом лабораторном клиническом испытании и сравнивался с иммунохемилюминиметрическим анализом ( $\alpha_1$ -Antitrypsin ILMA), который тогда использовался, как рутинный. Исследование показало следующие характеристики:

Чувствительность:	96.3 %
Специфичность:	83.0 %

### 13.2. Предел детекции

Предел детекции набора RIDASCREEN® $\alpha$ 1-Antitrypsin ELISA был рассчитан, как сумма из добавочного значения  $B_0$  и его двойного стандартного отклонения.  $B_0$  это среднее при множественных определениях ( $n=36$ ) отрицательного контроля (Diluent[3]).

Предел детекции  $\alpha$ 1-Antitrypsin в стуле - 30.8  $\mu$ г/г.

### 13.3. Линейность результатов тестирования

Серийные разведения множественных  $\alpha$ 1-Antitrypsin положительных и отрицательных образцов стула были использованы для валидирования линейности RIDASCREEN® $\alpha$ 1-Antitrypsin ELISA. Взвешивание, ресуспендирование образцов и первичное их разведение выполнялись в строгом соответствии с инструкцией (см. 9.4). Затем были подготовлены последовательные серийные разведения с использованием RIDASCREEN® Sample Diluent [Diluent[3]]. Экстинкции (ОП) индивидуальных концентраций были пересчитаны в обратном порядке для вычисления стартовых концентраций, с использованием соответственного фактора разведения. Предоставленные серийные разведения, для  $\alpha$ 1-антитрипсин положительных и  $\alpha$ 1-антитрипсин отрицательных образцов приведены в Таблице 2.

Таблица 2: Определение линейности результатов анализа

Разведение	RIDASCREEN® $\alpha$ 1-Antitrypsin	
	Положительные образцы [ $\mu$ г/г стула]	Отрицательные образцы [ $\mu$ г/г стула]
1:12500	526	241
1: 20000	484	235
1: 25000	525	255
1: 30000	518	252
Среднее (ОП)	513	246
SD	19.8	9.4
CV %	3.9	4.8

### 13.4. Точность

Изучение внутри- и межлабораторной воспроизводимости набора RIDASCREEN® $\alpha$ 1-Antitrypsin ELISA было выполнено при множественном определении с двумя разными концентрациями гемоглобина в разные дни при оптимальных условиях. Результаты приведены в Таблицах 3 и 4.

Таблица 3: Внутри-лабораторная воспроизводимость (n=20)

Intra-assay	RIDASCREEN <sup>®</sup> α1-Antitrypsin	
	Концентрация 1(10 нг/мл)	Концентрация 2 (30 нг/мл)
Среднее (ОП)	0.404	1.081
SD	0.020	0.051
CV %	4.9	4.8

Таблица 4: Меж-лабораторная воспроизводимость (n=16)

Inter-assay	RIDASCREEN <sup>®</sup> α1-Antitrypsin	
	Концентрация 1(10 нг/мл)	Концентрация 2 (30 нг/мл)
Среднее (ОП)	0.409	1.080
SD	0.032	0.057
CV %	7.9	5.3

#### 14. Список литературы

1. Arndt et al., 1993, Crohn; Clin. Lab. 11: 867-876
2. Stein, J., 1996, 3. Post-graduierntenkurs 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.