

## RIDASCREEN® slgA

**REF** G09035



## 1. Campo di applicazione

Per la diagnostica *in vitro*. RIDASCREEN® sIgA è un dosaggio immunoenzimatico per la rilevazione quantitativa delle IgA secretorie (sIgA) umane in campioni fecali.

## 2. Sintesi e spiegazione del test

Le IgA sono le più eterogenee di tutte le immunoglobuline umane. Gli anticorpi IgA sono presenti nei fluidi corporei esterni e costituiscono una delle principali barriere di difesa contro i patogeni.

Le concentrazioni fecali di sIgA possono fornire informazioni sullo stato autoimmune delle mucose intestinali.

Le IgA si presentano in forma monomerica (mIgA), polimerica (pIgA) e secretoria (sIgA) dimerica. La formazione di IgA secretorie è indipendente dalla sintesi di IgA sieriche. Le IgA secretorie sono costituite da due molecole di IgA (monomeriche), una catena J, una componente secretoria (catena SC) e un polipeptide con massa molecolare di 70 kDa. La componente secretoria è sintetizzata dalle cellule epiteliali delle mucose del tratto gastrointestinale, respiratorio e urogenitale, e delle ghiandole salivari, lacrimali e mammarie. Le plasmacellule nello spazio subendoteliale delle mucose secernono un complesso costituito da due molecole di IgA collegate tra loro attraverso la proteina J. Questo complesso si lega poi alla componente secretoria, che si trova sulla superficie della cellula epiteliale. Dopo il legame, le sIgA vengono trasportate selettivamente attraverso la cellula epiteliale per mezzo di recettori epiteliali, ed escrete sulla superficie della mucosa per esocitosi. In questo modo, le IgA secretorie (sIgA) sono trasportate in grandi quantità, ad esempio, sulla superficie della mucosa intestinale. Le IgA secretorie, tuttavia, possono essere trovate anche in altre secrezioni corporee come latte materno, saliva, lacrime, muco nasale e tracheobronchiale.

La determinazione delle concentrazioni di sIgA nelle feci può fornire informazioni sullo stato funzionale del tessuto linfoide associato all'intestino (GALT), che è il sistema immunitario dell'intestino. Le sIgA sono un indicatore delle prestazioni secretorie e del livello di stimolazione delle plasmacellule nella sottomucosa intestinale.

Una carenza di sIgA riflette la diminuzione dell'attività di difesa immunitaria della mucosa intestinale, mentre l'aumento dei livelli di sIgA indica che l'attività del sistema immunitario intestinale è aumentata.

Considerando le forti proprietà antinfiammatorie delle IgA, l'aumento delle concentrazioni fecali di sIgA suggerisce la presenza di risposte infiammatorie locali nella mucosa intestinale.

RIDASCREEN® sIgA consente una rilevazione rapida e affidabile di:

- Stato funzionale del tessuto linfoide associato all'intestino (GALT)
- Diminuzione del livello di sIgA: ridotta attività del sistema immunitario associato all'intestino
- Aumento del livello di sIgA: aumento dell'attività del sistema immunitario associato all'intestino
- Compromissione della funzione di barriera immunologica della mucosa intestinale (aumento della suscettibilità alle infezioni, malattie allergiche)
- Infiammazione locale della mucosa intestinale
- Malattie autoimmuni

### **3. Principio del test**

RIDASCREEN® sIgA utilizza anticorpi specifici con un metodo a sandwich. La superficie del pozzetto della piastra da microtitolazione viene rivestita con anticorpi specifici diretti contro gli epitopi delle sIgA umane. Una sospensione del campione fecale da analizzare viene pipettata nel pozzetto della piastra da microtitolazione, quindi incubata. Questa procedura è seguita da una fase di lavaggio e da una seconda fase di incubazione con un anticorpo monoclonale coniugato con perossidasi di rafano. In presenza di sIgA, gli anticorpi immobilizzati, gli antigeni sIgA e l'anticorpo coniugato formano un complesso a sandwich. Gli anticorpi non legati marcati con l'enzima vengono rimossi in un'ulteriore fase di lavaggio. Nei campioni positivi, dopo l'aggiunta di un substrato, l'enzima legato converte la soluzione incolore nei pozzetti della piastra da microtitolazione in una soluzione blu. L'aggiunta di un reagente bloccante causa una variazione cromatica dal blu al giallo. L'assorbanza misurata è proporzionale alla concentrazione di sIgA presente nel campione.

#### 4. Contenuto della confezione

I reagenti nel kit sono sufficienti per 96 determinazioni.

Plate	96 test	Piastra da microtitolazione, 12 strisce da microtitolazione (frazionabili) in telaio di fissaggio; rivestimento con anticorpi policlonali (da coniglio) diretti contro le IgA secretorie
Extract 10x	100 ml	Tampone di estrazione e di diluizione (conc. 10x); per l'estrazione e la diluizione primaria di campioni fecali; soluzione di NaCl tamponata con fosfato; contiene lo 0,1 % di Tween e lo 0,1 % di NaN <sub>3</sub>
Diluent   3	100 ml	Tampone di diluizione del campione 3 (per la diluizione finale), soluzione di NaCl tamponata con proteine; contiene lo 0,1 % di NaN <sub>3</sub> ; pronto per l'uso, colorato di rosso
Wash buffer	100 ml	Tampone di lavaggio 10x (concentrazione 10 volte), soluzione di NaCl tamponata con fosfato; contiene lo 0,1 % di timerosal
Calibrator	1 ml	Calibratore (per calibrazione standard); contiene lo 0,1 % di NaN <sub>3</sub> ; pronto per l'uso
High control	1 ml	Controllo alto; contiene lo 0,1 % di NaN <sub>3</sub> ; pronto per l'uso
Low control	1 ml	Controllo basso; contiene lo 0,1 % di NaN <sub>3</sub> ; pronto per l'uso
Conjugate	12 ml	Anticorpo monoclonale (topo) coniugato con perossidasi diretto contro sIgA umane in soluzione proteica stabilizzata; pronto all'uso
SeroSC	12 ml	Substrato; perossido di idrogeno/TMB; pronto all'uso
Stop	12 ml	Reagente bloccante; acido solforico 1 N; pronto all'uso

Le sostanze pericolose sono indicate in base ai requisiti di etichettatura. Per ulteriori dettagli, consultare le schede di dati di sicurezza (SDS) su [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

#### 5. Istruzioni di conservazione

Tutti i reagenti devono essere conservati a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C e possono essere utilizzati fino alla data di scadenza stampata sull'etichetta. Il tampone di lavaggio diluito e il tampone di estrazione diluito possono essere utilizzati

per un massimo di 4 settimane se conservati a 2 - 8 °C. La contaminazione microbica deve essere evitata. Dopo la data di scadenza la garanzia di qualità non è più valida. Utilizzare le forbici per aprire la busta in alluminio contenente le strisce da microtitolazione, ma fare attenzione a non strappare la chiusura a clip. Le strisce da microtitolazione inutilizzate devono essere immediatamente sigillate nella busta in alluminio e conservate a 2 - 8 °C. Anche il substrato incolore deve essere protetto dalla luce diretta per evitare che si decomponga o diventi blu per effetto dell'auto-ossidazione. Un substrato che sia diventato blu non deve essere utilizzato.

## **6. Reagenti e dispositivi aggiuntivi necessari**

### **6.1. Reagenti**

- Acqua distillata o deionizzata

### **6.2. Attrezzatura**

- Microbilancia
- Vorticolatore (opzionale, vedere punto 9.4.)
- Micropipetta da 50-100 µl e 1 ml in volume
- Cilindro graduato (1.000 ml)
- Cronometro
- Dispositivo di lavaggio per piastre da microtitolazione o pipette multicanale (300 µl)
- Fotometro per piastra da microtitolazione (450 nm; filtro di riferimento ≥ 620 nm)
- Carta da filtro (salviette da laboratorio)
- Contenitore per rifiuti con soluzione di ipoclorito allo 0,5 %

## **7. Avvertenze e misure precauzionali**

Esclusivamente per uso diagnostico *in vitro*.

Questo test deve essere eseguito esclusivamente da personale di laboratorio qualificato. Osservare le linee guida per il lavoro nei laboratori medici.

Nell'esecuzione del test, attenersi rigorosamente alle istruzioni per l'uso. Non pipettare con la bocca campioni o reagenti. Evitare il contatto con lesioni cutanee o mucose. Durante la manipolazione di campioni e reagenti indossare gli appositi dispositivi di protezione individuale (guanti, camice e occhiali di sicurezza adatti) e lavarsi le mani dopo aver eseguito il test. Non fumare, mangiare o bere nelle aree in cui vengono manipolati i campioni.

Per ulteriori dettagli consultare le schede di dati di sicurezza (SDS) su [www.r-biopharm.com](http://www.r-biopharm.com).

I campioni fecali devono essere gestiti come potenzialmente infetti, in conformità con i requisiti di sicurezza nazionali.

Il tampone di lavaggio contiene lo 0,1 % di timerosal come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le mucose.

Il calibratore, il controllo alto, il controllo basso, il tampone di estrazione e il tampone di diluizione del campione contengono lo 0,1 % NaN<sub>3</sub> come conservante. Questa sostanza non deve entrare in contatto con la cute o le mucose.

Il perossido di idrogeno (substrato) può causare ustioni chimiche. Maneggiare con cautela.

Il reagente bloccante contiene acido solforico 1 N. Evitare il contatto con la cute e con gli indumenti. Se il reagente entra in contatto con la cute, sciacquare con acqua. Tutti i reagenti e i materiali che entrano in contatto con campioni potenzialmente infettivi devono essere trattati con adeguati disinfettanti o messi in autoclave per almeno un'ora a 121 °C.

**ATTENZIONE:** per evitare la formazione di gas velenosi, i residui liquidi contenenti reagente bloccante devono essere neutralizzati prima di essere aggiunti a una soluzione di ipoclorito.

Gli utenti sono responsabili del corretto smaltimento di tutti i reagenti e materiali dopo l'uso. Per lo smaltimento attenersi alle disposizioni nazionali.

## **8. Raccolta e conservazione di campioni**

I campioni fecali devono essere trasportati possibilmente refrigerati e conservati a 2-8 °C prima dell'analisi. Si consiglia di preparare immediatamente il campione o di conservarlo a una temperatura di -20 °C o inferiore. Evitare di congelare e scongelare più volte il campione. I campioni fecali non devono essere raccolti in contenitori per il trasporto che contengano terreni di trasporto con conservanti, sieri animali, ioni metallici, agenti ossidanti o detergenti, perché potrebbero crearsi interferenze con il test RIDASCREEN®sIgA.

## **9. Esecuzione del test**

### **9.1. Informazioni generali**

Tutti i reagenti e la piastra da microtitolazione Plate devono essere portati a temperatura ambiente (20 - 25°C) prima dell'uso. Le strisce da microtitolazione devono essere rimosse dalla busta di alluminio solo dopo il raggiungimento della temperatura ambiente. Mescolare bene i reagenti immediatamente prima dell'uso. Dopo l'uso, le strisce da microtitolazione inutilizzate (inserite in buste sigillate) e i reagenti devono essere conservati a una temperatura di 2 - 8 °C. Una volta usate, le strisce da microtitolazione non devono essere riutilizzate. Non utilizzare reagenti o strisce da microtitolazione se la confezione è danneggiata o i contenitori non sono sigillati ermeticamente. Evitare il contatto diretto dei campioni con i componenti del kit per evitare la contaminazione crociata. Il test non deve essere eseguito in presenza di luce solare diretta. Si raccomanda di coprire o sigillare con una pellicola in plastica la piastra da microtitolazione per evitare la perdita per evaporazione.

## 9.2. Preparazione del tampone di lavaggio

Miscelare 1 parte di concentrato di tampone di lavaggio Wash 10x con 9 parti di acqua distillata (1:10). In questa fase, versare 100 ml di concentrato in un cilindro graduato da 1.000 ml e aggiungere acqua distillata fino a raggiungere il livello di 1.000 ml. Eventuali cristalli presenti nel concentrato devono essere prima sciolti attraverso il riscaldamento (bagnomaria a 37 °C).

## 9.3. Preparazione del tampone di estrazione

Miscelare 1 parte di concentrato di tampone di estrazione Extract 10x con 9 parti di acqua distillata (1:10). In questa fase, versare 100 ml di concentrato in un cilindro graduato da 1.000 ml e aggiungere acqua distillata fino a raggiungere il livello di 1.000 ml. Eventuali cristalli presenti nel concentrato devono essere prima sciolti attraverso il riscaldamento (bagnomaria a 37 °C).

## 9.4. Preparazione dei campioni

### 9.4.1. Pesatura e sospensione del campione

Si consiglia di conservare i campioni fecali a -20 °C fino alla preparazione. I campioni congelati devono essere portati lentamente a temperatura ambiente..

Pesare 100 mg di campione fecale in una provetta etichettata, quindi aggiungere 5 ml di tampone di estrazione diluito usando una pipetta (diluizione 1:50).

In alternativa, pesare tra 80 e 130 mg del campione fecale e, per garantire un rapporto di diluizione costante (1:50), variare il volume del tampone di estrazione diluito utilizzato a seconda del peso (vedere Tabella 1).

**Tabella 1:** Dati sulle quantità necessarie di tampone di estrazione diluito in funzione della quantità di feci pesate (fattore di diluizione costante di 1:50).

Peso del campione [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

Durante la risospensione in un volume di tampone di estrazione costante di 5 ml, nel calcolo deve essere preso in considerazione il fattore di diluizione variabile (vedere Tabella 2).

**Tabella 2:** Dati sul fattore di diluizione con aggiunta costante di tampone di estrazione diluito (5 ml), a seconda del peso delle feci

Peso del campione [mg]	Fattore di diluizione
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 sospensione fecale viene omogeneizzata miscelandola accuratamente con un miscelatore a vortice, indipendentemente dal metodo utilizzato per pesare il campione. Se le feci sono liquide, utilizzare una pipetta per prelevare esattamente 100 µl e sospenderli esattamente in 5 ml di tampone di estrazione diluito.

Quindi la sospensione omogeneizzata deve essere centrifugata per 10 minuti ad almeno 3.000 g per depositare le particelle di feci grossolane. Il surnatante dell'estratto deve essere ulteriormente diluito immediatamente per l'uso nel test. Si consiglia di conservare il surnatante aliquotato a una temperatura di -20 °C o inferiore.

#### 9.4.2. Diluizione manuale del campione

Diluire 50 µl del surnatante chiarificato (vedere 9.4.1) in 950 µl di tampone di estrazione diluito (1:20) e vorticare il campione. Il campione viene poi ulteriormente diluito, diluendo 100 µl della prima diluizione con 900 µl di tampone di diluizione del campione RIDASCREEN® Diluent | 3 (1:10); segue vorticazione. La diluizione finale del campione fecale (1:10.000) sarà utilizzata nel test.

Un metodo alternativo idoneo per la processazione e l'omogeneizzazione del materiale del campione sopra descritto è il sistema di preparazione fornito dall'azienda. R-Biopharm AG sarà lieta di fornire, su richiesta, istruzioni specifiche sulle modalità d'uso di questo metodo.



### 9.4.3. Diluizione automatica del campione

Se il test deve essere eseguito sul sistema ELISA automatizzato DSX (Dynex Technologies, Inc.), il protocollo di test specifico richiesto a tal fine deve essere richiesto a R-Biopharm AG e applicato al sistema. Il campione viene quindi diluito automaticamente come descritto di seguito.

25 µl del surnatante chiarificato sono pipettati dal sistema automatico ELISA in una piastra a pozzetti profondi e diluiti con 975 µl di tampone di estrazione diluito (1:40). Seguono due cicli di miscelazione.

Il numero necessario di strisce da microtitolazione viene inserito nel telaio di fissaggio per la piastra da microtitolazione RIDASCREEN® sIgA [Plate].

Singoli volumi da 20 µl del campione diluito vengono trasferiti dalla piastra a pozzetti profondi alla piastra da microtitolazione RIDASCREEN® sIgA [Plate] e diluiti ulteriormente con 80 µl di tampone di diluizione del campione RIDASCREEN® [Diluent | 3] (1:5; diluizione finale 1:10.000).

Per istruzioni sulle modalità di esecuzione del test con altri sistemi di pipettaggio automatizzati per ELISA contattare R-Biopharm AG.

### 9.5. Prima incubazione

Dopo aver inserito un numero sufficiente di pozzetti nel supporto, aggiungere 100 µl di calibratore [Calibrator] (in duplicato), il tampone di diluizione del campione RIDASCREEN® [Diluent | 3] (= controllo negativo), il controllo alto [High control | +] e le diluizioni finali del campione fecale da analizzare nei relativi pozzetti. Se utilizzato, aggiungere 100 µl del controllo basso [Low control | +] al test. Quindi incubare la piastra per un'ora a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

### 9.6. Primo lavaggio

Un accurato lavaggio è importante per ottenere risultati corretti e deve pertanto essere effettuato attenendosi rigorosamente alle istruzioni. Il prodotto di incubazione dei pozzetti deve essere svuotato in un contenitore per rifiuti contenente soluzione di ipoclorito per la disinfezione. Quindi picchiettare la piastra su carta assorbente per rimuovere l'umidità residua. Lavare poi la piastra 5 volte utilizzando ogni volta 300 µl di tampone di lavaggio diluito (vedere 9.2). Assicurarsi che i pozzetti vengano completamente svuotati picchiettandoli dopo ciascun lavaggio su un foglio di carta assorbente asciutto e nuovo.

Quando si utilizza un dispositivo di lavaggio per micropiastre, accertarsi che la macchina sia regolata correttamente sul tipo di piastra da microtitolazione impiegato. Oltre a ciò, l'eventuale sospensione fecale non completamente priva di particelle prima del primo lavaggio deve essere rimossa manualmente dalle cavità mediante centrifugazione per evitare di ostruire gli aghi di lavaggio. Inoltre, assicurarsi che tutto il liquido venga aspirato in ogni fase di lavaggio. Dopo l'ultimo lavaggio, tamponare accuratamente la piastra su carta assorbente pulita o su carta da laboratorio al fine di eliminare l'eventuale umidità residua.

### 9.7. Seconda incubazione

Aggiungere 100 µl di coniugato **Conjugate** in ogni pozzetto. Quindi incubare la piastra per un'ora a temperatura ambiente (20 - 25 °C).

### 9.8. Secondo lavaggio

Dopo il periodo di incubazione, svuotare il coniugato dei pozzetti in un contenitore per rifiuti contenente una soluzione di ipoclorito per la disinfezione. Quindi picchiettare la piastra su carta assorbente per rimuovere l'umidità residua. Lavare poi la piastra 5 volte utilizzando ogni volta 300 µl di tampone di lavaggio. Assicurarsi che i pozzetti vengano completamente svuotati picchiettandoli dopo ciascun lavaggio su un foglio di carta assorbente asciutto e nuovo.

### 9.9. Terza incubazione

Aggiungere 100 µl di substrato **SeroSC** a ogni pozzetto. Quindi incubare la piastra per 15 minuti al buio a temperatura ambiente (20 - 25 °C). Successivamente, arrestare la reazione aggiungendo 50 µl di reagente bloccante **Stop** a ogni pozzetto.

Dopo avere miscelato con cura (picchiettando leggermente il bordo della piastra), misurare l'assorbanza a 450 nm alla lunghezza d'onda di riferimento di 620 nm.

Avvertenze: I campioni di pazienti altamente positivi possono causare precipitati nerastri del substrato. Questi campioni devono essere diluiti 1:10 e utilizzati nuovamente nel test (vedere 9.5.). (diluizione finale del campione fecale: 1:10.0000).

## 10. Controllo di qualità: indicazione di instabilità o deterioramento dei reagenti

Ai fini del controllo di qualità, il calibratore **Calibrator** (in duplicato), il tampone di diluizione del campione RIDASCREEN® **Diluent | 3** come controllo negativo, e il controllo alto **High control | +** devono essere utilizzati ogni volta che si effettua il test per garantire la stabilità dei reagenti e le prestazioni corrette del test. L'uso del controllo basso è opzionale.

Il test è stato eseguito correttamente quando la media di estinzione (OD) del controllo negativo a 450 nm/620 nm è inferiore a 0,05, e la media di estinzione (OD) mediata del calibratore rientra nell'intervallo indicato nella scheda di dati specifica del lotto. Il controllo alto deve rientrare nell'intervallo di concentrazione specifico del lotto indicato nella scheda tecnica.

Quando RIDASCREEN® sIgA viene analizzato su sistemi ELISA aperti e completamente automatizzati, e a seconda del sistema, la OD misurata del calibratore **Calibrator** può differire dall'intervallo indicato sul certificato specifico del lotto. Anche sui sistemi ELISA completamente automatizzati, il controllo alto **High control | +** è decisivo per la validità dei risultati del test e deve quindi essere sempre testato. L'utilizzo del controllo basso **Low control | +** non è indispensabile.

Uno scostamento dai valori richiesti, una torbidità del reagente, o una colorazione blu del substrato incolore prima dell'inserimento nei pozzetti può indicare che i reagenti sono scaduti. Se i valori fissati non vengono soddisfatti, prima di ripetere il test è necessario verificare i seguenti punti:

- Data di scadenza dei reagenti utilizzati
- Prestazioni funzionali dell'attrezzatura utilizzata (ad es. calibrazione)
- Correttezza della procedura di esecuzione del test
- Controllo visivo dei componenti del kit per verificare che non presentino contaminazione o perdite; una soluzione di substrato che sia diventata blu non deve essere utilizzata.

Se le condizioni continuano a non essere soddisfatte dopo la ripetizione del test, rivolgersi al produttore o al proprio distributore R-Biopharm locale.

## **11. Valutazione e interpretazione**

### **11.1. Quantificazione a punto singolo conformemente al modello logaritmico logistico a 4 parametri**

Per determinare la concentrazione in  $\mu\text{g/g}$  delle slgA in un campione fecale, RIDASCREEN®slgA utilizza il modello logaritmico logistico a 4 parametri (4PL). Per calcolare i risultati è necessario utilizzare il software di valutazione RIDA®SOFT Win.net. Il software RIDA®SOFT Win.net o i relativi aggiornamenti possono essere richiesti contattando R-Biopharm AG o il distributore R-Biopharm locale.

I parametri (A - D) necessari per il calcolo del 4PL della curva standard e il valore target per il calibratore, il controllo alto e il controllo basso si trovano nella scheda tecnica specifica del lotto fornita con il kit del test e devono essere confrontati con i valori del software di valutazione prima della misurazione.

Nel controllo di qualità finale, R-Biopharm AG calcola la curva standard (inclusi i parametri A - D) in condizioni di test ottimali per ogni lotto del kit, come pure un valore target e un intervallo consentito per la deviazione standard per il calibratore, il controllo alto e il controllo basso.

Il calibratore viene testato anche per compensare le fluttuazioni del test e controllare la qualità della procedura di test. Il controllo alto fornisce informazioni sulla validità del test.

RIDA®SOFT Win.net calcola internamente il fattore di correzione F dalla media dell'analisi in duplicato del calibratore e del suo valore target. Questo fattore di correzione viene poi riconciliato con le assorbanze per i campioni fecali. I risultati del test possono essere valutati in modo sicuro e affidabile entro i limiti della curva standard.

Al posto di RIDA®SOFT Win.net si possono utilizzare anche altri software di valutazione che usano il modello logaritmico logistico a 4 parametri.

## 11.2. Risultato del test

L'intervallo normale di sIgA è 100-1200 µg sIgA/g di feci. Se i risultati sono inferiori a 100 µg di sIgA/g di feci, i livelli di sIgA sono insufficienti. Se i risultati sono superiori a 1200 µg di sIgA/g di feci, i livelli di sIgA sono elevati.

Consigliamo a ogni laboratorio di stabilire la propria gamma di valori standard.

## 12. Limiti del metodo

Il kit RIDASCREEN® sIgA rileva epitopi di sIgA umane in campioni fecali. Pertanto non è possibile dedurre una correlazione tra il livello di una determinata media di estinzione e la gravità dei sintomi clinici. I risultati ottenuti devono essere sempre interpretati in relazione ai segni e sintomi clinici.

## 13. Prestazioni e caratteristiche

### 13.1. Sensibilità analitica

La sensibilità analitica è stata determinata analizzando il limite del bianco (LoB) utilizzando un totale di 210 misurazioni di un tampone, costituito da tampone di estrazione e diluente, e analizzando il limite di rilevazione (LoD) utilizzando 70 misurazioni di un campione di controllo positivo. I risultati sono riportati nella Tabella 3.

**Tabella 3:** Risultati della sensibilità analitica

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

### 13.2. Precisione

La riproducibilità intra-test e inter-test di RIDASCREEN® sIgA è stata determinata più volte in giorni diversi, mantenendo condizioni ottimali. Dai risultati sono stati calcolati il valore medio (MV), la deviazione standard (SD) e il coefficiente di variazione (CV). Le Tabelle 3 e 4 mostrano i risultati.

**Tabella 4:** Riproducibilità intra-test (n = 16)

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

**Tabella 5:** Riproducibilità inter-test (n = 8)

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

### 13.3. Linearità dei risultati dei test

Per verificare la linearità di RIDASCREEN® sIgA, sono state preparate serie di diluizioni seriali di diversi campioni fecali contenenti sIgA; inoltre sono stati determinati i pesi dei campioni e della sospensione, nonché della prima diluizione del campione come indicato nelle presenti istruzioni (vedere 9.4). Le fasi di diluizione seriale sono state quindi preparate utilizzando il tampone di diluizione del campione RIDASCREEN® Diluent | 3.

Sono state calcolate le concentrazioni determinate nel test rispetto a quelle attese. La Tabella 5 mostra le serie di diluizioni di tre campioni con concentrazioni di sIgA variabili.

**Tabella 5:** Determinazione della linearità dei risultati del test










Campione	Diluizione	Concentrazione determinata (µg/g)	Concentrazione attesa (µg/g)	Concentrazione determinata/ concentrazione attesa
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 %
	MV			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 %
	MV			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	-
	MV			115 %
	MV (totale)			106 %

## 14. Cronologia delle versioni


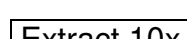
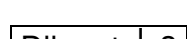
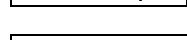
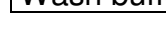
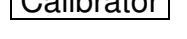
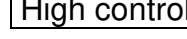
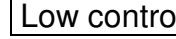
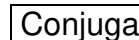

Numero della versione	Capitolo e designazione
2019-02-27	Revisione generale 14. Cronologia delle versioni 15. Descrizione dei simboli

## 15. Descrizione dei simboli

### Simboli generali

	Diagnostica in vitro
	Leggere il foglio illustrativo
	Codice identificativo
	Utilizzabile fino a
	Temperatura di conservazione
	Numero articolo
	Quantità di test
	Data di produzione
	Produttore

### Simboli specifici del test

	Piastra da microtitolazione
	Tampone di estrazione e di diluizione
	Tampone di diluizione del campione
	Tampone di lavaggio 10x
	Calibratore
	Controllo alto
	Controllo basso
	Coniugato
	Substrato
	Reagente bloccante

## 16. Bibliografia

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.