



DCM078-11

Ed. 11/2024

IgA SALIVA ELISA

per analisi di routine

Determinazione immunoenzimatica diretta della concentrazione di IgA nella saliva

IVD

LOT

Vedere etichetta
esterna2°C  8°C $\Sigma = 96$ tests

REF DKO078

1. SCOPO PREVISTO

Per uso diagnostico *in vitro*

Per uso professionale in laboratorio

IgA Saliva ELISA è un dispositivo diagnostico manuale *in vitro* per la determinazione quantitativa della concentrazione di IgA nella saliva da una popolazione adulta.

2. SIGNIFICATO CLINICO

Le IgA rappresentano circa 15%-20% delle immunoglobuline nel sangue, si trovano anche nel muco secreto nello stomaco, nei polmoni e nell'intestino. Ciò impedisce ai microbi di legarsi alle cellule epiteliali delle vie respiratorie e del tratto digestivo. Questa immunoglobulina interviene nei processi immunitari verso gli agenti patogeni della pelle, delle vie respiratorie o del tratto gastro-intestinale. Esiste in due forme, IgA1 (90%) e IgA2 (10%) che differiscono nella struttura. IgA1 è presente nel siero ed è secreto dalle cellule B del midollo osseo, IgA2 è secreto dalle cellule B situate nelle mucose ed è stato trovato nel colostro, il latte materno, nelle lacrime e nella saliva.

L'IgA secreto presenta una struttura dimerica, collegata da due catene supplementari. Una di queste è la catena J (da join), che è un polipeptide di 1.5 kD, ricco in cisteine e strutturalmente completamente differente dalle altre catene delle immunoglobuline. La forma dimerica di IgA secreta esternamente presenta un polipeptide della stessa massa molecolare (kD 1.5) denominata catena secretiva ed è sintetizzata dalle cellule epiteliali.

La diminuzione o assenza di IgA, definita *IgA selective deficiency*, può essere un'immunodeficienza clinicamente significativa.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test IgA saliva ELISA è basato sulla cattura simultanea dell'IgA umana da parte di due anticorpi: uno monoclonale immobilizzato nella micropiastra ed uno policlonale coniugato con la perossidasi di rafano (HRP).

Dopo l'incubazione, la separazione del legato dal libero viene eseguita con un semplice lavaggio della fase solida.

Quindi, l'enzima HRP nella parte legata reagisce con il substrato (H_2O_2) e il substrato TMB e sviluppa un colore blu che cambia in giallo quando viene aggiunta la soluzione di arresto (H_2SO_4). L'intensità del colore è proporzionale alla concentrazione di IgA nel campione.

La concentrazione di IgA nel campione viene calcolata attraverso una curva di calibrazione.

4. REATTIVI, MATERIALI E STRUMENTAZIONE

4.1. Reattivi e materiali forniti nel kit

1. Calibrators (5 flaconi, 1 mL ciascuno)

ProClin >0,0015%

CAL0

REF DCE002/7806-0

CAL1

REF DCE002/7807-0

CAL2

REF DCE002/7808-0

CAL3

REF DCE002/7809-0

CAL4

REF DCE002/7810-0

2. IgA Saliva Control (1 flacone, 1 mL)

La concentrazione del Controllo è indicata sul Certificato di Analisi. ProClin >0,0015%

REF DCE045/7803-0

3. 5X Conc. IgA Assay Buffer (1 flacone, 40 mL)

Hepes buffer 25 mM pH 7,4; BSA 0,5 g/L, ProClin >0,0015%

REF DCE049/7849-0

4. 20X Conc. Conjugate (1 flacone, 1 mL)

Anticorpo anti IgA coniugato con perossidasi di rafano (HRP). ProClin >0,0015%, BSA 0,1%

REF DCE002/7802-0

5. Coated Microplate (1 microplate breakable)

Anticorpo anti IgA adsorbito nella micropiastra

REF DCE002/7803-0

6. TMB Substrate (1 flacone, 15 mL)

 H_2O_2 -TMB (0,26 g/L) (evitare il contatto con la pelle)

ProClin <0,0015%

REF DCE004-0

7. Stop Solution (1 flacone, 15 mL)

Acido Solforico 0,15M (evitare il contatto con la pelle)

REF DCE005-0

8. 50X Conc. Wash Solution (1 flacone, 20 mL)

NaCl 45 g/L; Tween-20 55 g/L. ProClin >0,0015%

REF DCE006B-0

4.2. Reattivi necessari non forniti nel kit

Acqua distillata.

4.3. Materiale e strumentazione ausiliare

Erogatore automatico

Pipette di precisione

Lettore per micropiastre (450 nm, 620-630 nm)

5. AVVERTENZE

- Questo kit è destinato all'uso *in vitro* esclusivamente da parte di professionisti. Non per uso interno o esterno in esseri umani o animali.
- Utilizzare adeguati dispositivi di protezione individuale mentre si lavora con i reagenti forniti.
- Seguire le buone prassi di laboratorio (GLP, Good Laboratory Practice) per la manipolazione di emoderivati.
-  Il materiale di origine animale utilizzato nella preparazione del kit è stato ottenuto da animali certificati come sani e la proteina bovina è stata ottenuta da Paesi non infettati dalla BSE, ma tali materiali devono essere trattati come potenzialmente infettivi.
- Alcuni reagenti (calibratori, control, **tampone di analisi**, coniugato e soluzione di lavaggio) contengono piccole quantità di ProClin™ 300 (>0,0015%, <0,06%) come conservante. Evitare il contatto con pelle o mucose.
- Classificazione secondo il regolamento (CE) n. 1272/2008 [CLP]

Sensibilizzazione cutanea, categoria 1



Attenzione

Contiene: ProClin 300

Indicazioni di pericolo:

H317 - Può provocare una reazione allergica cutanea.

Consigli di prudenza:

P261 - Evitare di respirare la polvere / i fumi / i gas / la nebbia / i vapori / gli aerosol.

P280 - Indossare guanti/indumenti protettivi / proteggere gli occhi / proteggere il viso / proteggere l'udito.

P321 - Trattamento specifico (vedere istruzioni supplementari di pronto soccorso su questa etichetta).

P333+P313 - In caso di irritazione o eruzione della pelle: Consultare un medico.

P362+P364 - Togliere tutti gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.

- Il TMB Substrato contiene un irritante, che può essere dannoso se inalato, ingerito o assorbito attraverso la cute. Per prevenire lesioni, evitare l'inalazione, l'ingestione o il contatto con la cute e con gli occhi.
- La Stop Solution è costituita da una soluzione di acido solforico diluito. L'acido solforico è velenoso e corrosivo e può essere tossico se ingerito. Per prevenire possibili ustioni chimiche, evitare il contatto con la cute e con gli occhi.
- Evitare l'esposizione del reagente TMB/H₂O₂ a luce solare diretta, metalli o ossidanti. Non congelare la soluzione.

6. PRECAUZIONI

- Attenersi rigorosamente alla sequenza dei passaggi di pipettaggio forniti in questo protocollo. I dati sulle prestazioni qui rappresentati sono stati ottenuti utilizzando i reagenti specifici elencati in queste istruzioni per l'uso.
- Tutti i reagenti devono essere conservati refrigerati a 2-8 °C nel contenitore originale. Tutte le eccezioni sono chiaramente indicate.
- Lasciare che tutti i componenti del kit e i campioni raggiungano la temperatura ambiente (22-28 °C) e mescolare bene prima dell'uso.
- Non scambiare i componenti di kit di lotti diversi. La data di scadenza stampata sulle etichette della confezione e delle fiale deve essere rispettata. Non utilizzare alcun componente del kit dopo la data di scadenza.
- Se si utilizzano apparecchiature automatizzate, l'utente ha la responsabilità di assicurarsi che il kit sia stato adeguatamente convalidato per il suo utilizzo/scopo previsto.
- La rimozione incompleta o imprecisa del liquido dai pozzetti potrebbe influenzare la precisione del dosaggio e/o aumentare il background. Per migliorare le prestazioni del kit sui sistemi automatici, si raccomanda di aumentare il numero di lavaggi.
- È importante che il tempo di reazione in ogni pozzetto sia mantenuto costante per ottenere risultati riproducibili. Il pipettaggio dei campioni non deve andare oltre i dieci minuti per evitare deviazioni del dosaggio. Se sono necessari più di 10 minuti, seguire lo stesso ordine di erogazione. Se si utilizza più di una piastra, si raccomanda di ripetere la curva dose-risposta in ogni piastra.
- L'aggiunta della soluzione di substrato TMB avvia una reazione cinetica, che viene terminata dall'aggiunta della soluzione di arresto. Pertanto, il substrato TMB e la soluzione di arresto devono essere aggiunti nella stessa sequenza per eliminare qualsiasi deviazione temporale durante la reazione.
- Osservare le linee guida per l'esecuzione del controllo di qualità nei laboratori medici analizzando i controlli e/o i sieri in pool.
- La massima precisione è richiesta per la ricostituzione e l'erogazione dei reagenti.
- I campioni microbiologicamente contaminati, altamente lipemici, itterici o emolizzati non devono essere utilizzati nel dosaggio.
- I lettori di piastre misurano verticalmente. Non toccare il fondo dei pozzetti.
- Quando si pipettano i reagenti del dosaggio, compresi campioni, calibratori e controlli, è necessario utilizzare puntali monouso nuovi per ridurre il rischio di contaminazione da carryover. In caso contrario, i risultati potrebbero non essere validi.

7. CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

Conservare il kit a 2-8 °C, al buio.

- Il kit è stabile a 2-8 °C fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta esterna del kit.
- Una volta aperto, il kit è stabile a 2-8 °C per 6 mesi*.
- La soluzione di lavaggio diluita è stabile per 30 giorni a 2-8 °C.
- La Assay Buffer diluita è stabile per 30 giorni a 2-8 °C.

- Il coniugato diluito è stabile per 3 ore a temperatura ambiente (22 – 28°C).

* I dati sulla stabilità in uso supportano la stabilità del reagente se usato tre volte entro questo periodo di tempo. Nota importante: aprire il sacchetto contenente la micropiastra rivestita solo quando è a temperatura ambiente e chiuderlo immediatamente dopo l'uso.

8. RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Il dosaggio deve essere effettuato su campioni di saliva.

Conservazione dei campioni	Durata
2 – 8 °C	24 ore
Cicli di congelamento/scongelamento	1 ciclo
-20°C	6 mesi

9. PROCEDURA

9.1. Preparazione di calibratori e controlli

Prima dell'uso, mescolare per 5 minuti con un miscelatore a rotazione.

I calibratori sono pronti per l'uso e hanno le seguenti concentrazioni:

Before use, mix for 5 minutes with a rotating mixer.

	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
µg/mL	0	6,9	62	132	400

Note: Le concentrazioni dei Calibratori sono 1000 volte inferiori rispetto a quelle del range di riferimento poiché essi vengono dispensati tal quale mentre i campioni subiscono di una diluizione 1:1000.

Le concentrazioni dei calibratori da inserire per i calcoli sono riportate nella tabella sopra.

I controlli sono pronti per l'uso; la concentrazione è stampata sull'etichetta.

9.2. Preparazione di IgA Assay Buffer

Diluire il contenuto della fiala "5X Conc. IgA Assay Buffer" (reattivo 3) con acqua distillata o deionizzata fino a un volume finale di 160 mL prima dell'uso. Per i volumi più piccoli, rispettare il rapporto di diluizione 1:5.

9.3. Preparazione del Coniugato diluito

Preparare immediatamente prima dell'uso.

Diluire 50 µL di 20X Conc. Conjugate (reattivo 4) con 950 µL di Assay Buffer diluito (fare riferimento alla sezione 9.2). La quantità di coniugato da preparare è proporzionale al numero dei test. Agitare delicatamente per 5 minuti con un oscillatore rotante.

9.4. Preparazione della soluzione di lavaggio

Diluire il contenuto della fiala "Soluzione di lavaggio conc. 50X" con acqua distillata fino a un volume finale di 1000 mL prima dell'uso. Per i volumi più piccoli, rispettare il rapporto di diluizione 1:50.

È possibile osservare la presenza di cristalli all'interno della soluzione di lavaggio concentrata; in tal caso, mescolare a temperatura ambiente fino alla completa dissoluzione dei cristalli. Per una maggiore precisione, diluire l'intero flacone di soluzione di lavaggio concentrata a 500 mL, avendo cura anche di trasferire completamente i cristalli sciacquando il flacone, quindi mescolare fino a quando i cristalli non si dissolvono completamente.

9.5. Preparazione dei campioni

La determinazione delle IgA anti-tTG può essere eseguita in campioni di saliva.

Per la raccolta del campione si consiglia l'utilizzo di tubi in vetro da centrifuga e di una cannuccia di plastica.

Far defluire la saliva attraverso la cannuccia nel tubo di vetro e centrifugare il campione per 15 minuti a 3000 rpm.

Non usare tubi di plastica o dispositivi disponibili in commercio poiché alterano il risultato analitico.

Preparare la soluzione A per ciascun campione diluendo 1:20 il liquido sopranatante della saliva in Assay Buffer diluito (es: 50 µL a 1 mL); successivamente agitare delicatamente ogni soluzione A lasciando almeno 5 minuti su agitatore rotante, e diluirla 1:50 con Assay Buffer diluito (es: 20 µL a 1 mL). Diluizione finale del campione ottenuta: 1:1000.

Conservare il campione a -20 °C se la determinazione non viene eseguita lo stesso giorno della raccolta del campione. Prima dell'uso, miscelare delicatamente per 5 minuti con un miscelatore a rotazione.

9.6. Procedimento

- **Lasciare che tutti i reagenti raggiungano la temperatura ambiente (22-28 °C) per almeno 30 minuti.** Alla fine del dosaggio, conservare immediatamente i reagenti a 2-8 °C: evitare una lunga esposizione a temperatura ambiente.
- Le strisce di micropozzetti rivestiti non utilizzate devono essere rilasciate in modo sicuro nella busta di alluminio contenente l'essiccante e conservate a 2-8 °C.
- Per evitare potenziali contaminazioni microbiche e/o chimiche, i reagenti inutilizzati non devono mai essere trasferiti nelle fiale originali.
- Poiché è necessario eseguire la determinazione in duplicato per migliorare la precisione dei risultati del test, preparare due pozzetti per ogni punto della curva di calibrazione (C₀-C₄), due per il controllo, due per ogni campione, uno per il bianco.

Reagente	Calibratore	Campione /Controllo	Bianco
Calibrator C ₀ -C ₄	25 µL		
Diluted samples / Control		25 µL	
Diluted conjugate	100 µL	100 µL	

Incubare 1 ora a temperatura ambiente (22 – 28 °C).
Rimuovere il contenuto da ogni pozzetto, lavare i pozzetti 3 volte con 300 µL di soluzione di lavaggio diluita.

Nota importante: durante ogni fase di lavaggio, agitare delicatamente la piastra per 5 secondi e rimuovere la soluzione in eccesso picchiando la piastra capovolta su un tovagliolo di carta assorbente.

Lavatore automatico: se si utilizzano apparecchiature automatiche, lavare i pozzetti almeno 5 volte.

TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Incubare 15 minuti al buio a temperatura ambiente (22 – 28°C).

Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Agitare delicatamente la micropiastra.
Leggere l'assorbanza (E) a 450 nm contro una lunghezza d'onda di riferimento di 620-630 nm oppure contro il Bianco entro 5 minuti.

10. CONTROLLO QUALITÀ

Le buone prassi di laboratorio (GLP) richiedono l'inclusione di campioni per il controllo della qualità in ogni serie di dosaggi al fine di verificare le prestazioni del dosaggio. I controlli devono essere trattati come campioni sconosciuti e i risultati devono essere analizzati con metodi statistici appropriati.

I controlli forniti nel kit devono essere testati come se fossero sconosciuti e hanno lo scopo di agevolare la valutazione della validità dei risultati ottenuti in ogni piastra di dosaggio. La concentrazione media di ciascun livello di controllo è documentata nel rapporto del controllo di qualità incluso in ciascun kit. Tali livelli di concentrazione media sono determinati in base a diversi dosaggi eseguiti in duplicato in più posizioni su ciascuna piastra.

DiaMetra raccomanda agli utenti di conservare le annotazioni grafiche dei valori di controllo generati con ciascun dosaggio, tra cui medie mobili, DS e % CV. Queste informazioni faciliteranno l'analisi delle tendenze dei controlli per quanto riguarda le prestazioni dei lotti di controllo attuali e pregressi rispetto ai dati forniti nel controllo di qualità. Le tendenze aiuteranno a identificare i dosaggi che generano valori di controllo significativamente diversi dal rispettivo intervallo medio.

Quando si interpretano i dati dei controlli, occorre tenere conto del fatto che il prodotto è stato progettato e sviluppato come prodotto per l'utilizzo manuale. L'intervallo riportato sul certificato del controllo di qualità deve essere appropriato per i dosaggi eseguiti manualmente e rispettando rigorosamente la procedura di dosaggio descritta sopra. Gli esperti del controllo di qualità riconoscono che, a causa delle differenze di condizioni e di prassi, si avrà sempre una variabilità nei valori medi e nella precisione delle misurazioni dei controlli eseguite da laboratori diversi¹³.

11. CALCOLO DEI RISULTATI

Sono disponibili vari pacchetti software di elaborazione dei dati, che possono essere utilizzati per generare la curva di calibrazione media e per calcolare le concentrazioni medie di campioni e controlli sconosciuti. È necessario un adattamento della curva logistica a 4 parametri logistici (di preferenza) o smoothed cubic spline che includa il calibratore 0. Gli altri algoritmi di adattamento della curva non sono raccomandati.

In alternativa, è possibile preparare una curva di calibrazione su carta millimetrata semilogaritmica tracciando un grafico con l'assorbanza media sull'asse delle ordinate e la concentrazione dell'analita sull'asse delle ascisse. Nella curva di calibrazione deve essere incluso il calibratore 0. Leggere il valore medio dell'assorbanza di ciascun campione sconosciuto dalla curva.

Affinché i risultati del dosaggio siano considerati validi, i calibratori e i controlli del kit devono rientrare nelle specifiche riportate nel certificato di analisi specifico del lotto.

In caso contrario, i risultati dei test associati non saranno validi e i campioni dovranno essere analizzati nuovamente.

12. INTERVALLO DI MISURAZIONE

L'intervallo di misurazione del dosaggio (AMR) è 3 – 400 µg/mL.

Qualsiasi valore inferiore 3 µg/mL deve essere indicato come "<3 µg/mL". Qualsiasi valore superiore a 400 µg/mL deve essere indicato come ">400 µg/mL".

13. METROLOGIA E TRACCIABILITÀ

Il test IgA Saliva ELISA è stato standardizzato rispetto agli standard di riferimento interni (IgA purificata in matrice proteica tamponata priva di analiti).

14. INCERTEZZA DI MISURA

L'incertezza associata alla misura dei calibratori del dosaggio (C₀-C₄) è stata determinata secondo le linee guida CLSI EP29-A "Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine; Approved Guideline". L'incertezza per ciascun livello di calibratore è stata valutata per un minimo di 5 giorni (1 sessione al giorno) da 3 operatori diversi. Risultato relativo a un lotto rappresentativo:

Calibratore	Conc. media (µg/mL)	Incetezza del calibratore Uc (µg /mL)
CAL0	<LoB	N/A
CAL1	7,0	0.54
CAL2	59,47	4.19
CAL3	140,34	18.21
CAL4	390,52	40.26

14. VALORI ATTESI

In base ai dati di letteratura e ai risultati ottenuti con il kit IgA Saliva ELISA, il range di normalità è:

	IgA Saliva
Range normalità	40 – 170 µg/mL

È importante tenere presente che la determinazione di un range di valori attesi in un dato metodo per una popolazione “normale” è dipendente da molteplici fattori, quali la specificità e sensibilità del metodo in uso, e la popolazione in esame.

Gli intervalli sopraindicati devono essere considerati solo come linee guida; si raccomanda a ogni laboratorio di stabilire i propri intervalli di valori attesi sulla base della propria popolazione di pazienti.

15. CARATTERISTICHE DI AZIONE

Sono mostrati i dati più rappresentativi delle prestazioni. I risultati ottenuti nei singoli laboratori possono variare.

15.1. Capacità di rilevamento

Il limite del bianco (LoB), il limite di rilevamento (LoD) e il limite della determinazione quantitativa (LoQ) sono stati definiti basandosi sulla procedura CLSI EP17-A, “Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation” utilizzando 6 bianchi e 6 campioni a basso livello.

Sensibilità	µg/mL
Limite del bianco (LoB)	1,12 µg/mL
Limite di rilevamento (LoD)	2,3 µg/mL
Limite della determinazione quantitativa (LoQ)	3 µg/mL

15.2. Esattezza

L'esattezza è stata dimostrata attraverso un test la valutazione di una diluizione seriale di uno standard di IgA purificato preparato internamente.

15.3. Precisione

La precisione del dosaggio IgA Saliva ELISA è stata determinata eseguendo un complesso studio di precisione.

Ripetibilità: un totale di 5 campioni di è stato analizzato in 5 repliche, una volta al giorno per 5 giorni da 3 operatori. I dati di un lotto rappresentativo sono mostrati di seguito:

Campione	n	Conc. media (µg/mL)	Ripetibilità	
			SD	CV%
1	75	6,4	0,7	11%
2	75	39,1	1,9	5%
3	75	95,4	4,7	5%
4	75	134,4	9,9	7%
5	75	294,7	19,5	7%

Riproducibilità: un totale di 5 campioni di è stato analizzato in 5 repliche, una volta al giorno per 5 giorni da 3 operatori. I dati di un lotto rappresentativo sono mostrati di seguito:

Campione	n	Conc. media (µg/mL)	Riproducibilità	
			SD	CV%
1	75	6,4	0,9	15%
2	75	39,1	3,4	9%
3	75	95,4	7,5	8%
4	75	134,4	11,6	9%
5	75	294,7	29,4	10%

15.4. Linearity

La linearità è stata valutata secondo le linee guida basate su CLSI EP-06, “Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures”. È stata preparata una diluizione seriale di campioni di siero ad alta e bassa concentrazione per creare un pannello da sopra il limite superiore di linearità (ULL) a sotto il limite inferiore di quantificazione (LLOQ).

Per quanto riguarda la concentrazione di IgA determinata mediante il test IgA Saliva ELISA, la procedura di misurazione mostra linearità nell'intervallo tra 3 e 407,33 µg/mL entro la deviazione di linearità consentita (ADL) di $\pm 15\%$ o ± 3 µg/mL per concentrazioni inferiori a LoQ.

15.5. Specificità analitica

La specificità è stata valutata con i seguenti reagenti crociati.

Reagente crociato	Concentrazione testata	Reattività crociata % media
IgA1	40 µg/mL	80,2%
IgA2	40 µg/mL	11,4%
IgG	4000 µg/mL	0,1%
IgM	4000 µg/mL	0,3%

Le seguenti sostanze non interferiscono con un bias > 15% nel dosaggio IgA Saliva ELISA quando le concentrazioni sono inferiori

Reagente potenzialmente interferente	Concentrazione di soglia
Albumina	1 g/dL
Acido citrico	1%
Emoglobina	200 mg/dL

15.6. Effetto “Hook”

L'effetto hook è stato testato utilizzando concentrazioni di analita fino a 600 µg/mL. Non è stato osservato alcun effetto hook.

16. LIMITAZIONI D'USO

- Come nel caso di qualsiasi procedura diagnostica, i risultati devono essere interpretati unitamente ai dati clinici del paziente e alle altre informazioni a disposizione del medico.
- Non sono state stabilite le caratteristiche di azione di questo dosaggio nella popolazione pediatrica.
- Gli anticorpi eterofili nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline dei reagenti, interferendo con gli immunodosaggi *in vitro*¹⁴. I pazienti regolarmente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero animale possono essere soggetti a questa interferenza, quindi si potrebbero osservare valori anomali.

17. GESTIONE DEI RIFIUTI

I reagenti devono essere smaltiti in conformità alle normative locali.

Tutti i materiali che sono entrati in contatto con i campioni e i reagenti devono essere smaltiti in conformità con le normative nazionali, regionali e locali.

18. BIBLIOGRAFIA

1. Tomasi, T. B., Jr., 19770436857, English, Book, USA, 9780134516097, Englewood Cliffs, New Jersey, The immune system of secretions., (xii + 161pp.), Prentice-Hall Inc., The immune system of secretions., (1976)
2. Ben-Aryeh H, Fisher M, Szargel R, Laufer D. Composition of whole unstimulated saliva of healthy children: changes with age. Arch Oral Biol. 1990;35(11):929-31. doi: 10.1016/0003-9969(90)90075-I. PMID: 1704211.
3. Smith DJ, Taubman MA, Ebersole JL. Ontogeny and senescence of salivary immunity. J Dent Res. 1987 Feb;66(2):451-6. doi: 10.1177/00220345870660021101. PMID: 3040823.
4. Ventura MT. Evaluation of IgA1-IgA2 levels in serum and saliva of young and elderly people. Allergol Immunopathol (Madr). 1991 Sep-Oct;19(5):183-5. PMID: 1811413.
5. Kugler J, Hess M, Haake D. Secretion of salivary immunoglobulin A in relation to age, saliva flow, mood states, secretion of albumin, cortisol, and catecholamines in saliva. J Clin Immunol. 1992 Jan;12(1):45-9. doi: 10.1007/BF00918272. PMID: 1551941.
6. Jemmott JB 3rd, McClelland DC. Secretory IgA as a measure of resistance to infectious disease: comments on Stone, Cox, Valdimarsdottir, and Neale. Behav Med. 1989 Summer;15(2):63-71. doi: 10.1080/08964289.1989.9935153. PMID: 2663100.
7. Gregory RL, Kim DE, Kindle JC, Hobbs LC, Lloyd DR. Immunoglobulin-degrading enzymes in localized juvenile periodontitis. J Periodontal Res.

1992 May;27(3):176-83. doi: 10.1111/j.1600-0765.1992.tb01666.x. PMID: 1318974.

8. Ruan MS. [The relation of secretory IgA and caries]. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 1990 May;25(3):158-60, 190. Chinese. PMID: 2120009.
9. Jemmott JB 3rd, Magloire K. Academic stress, social support, and secretory immunoglobulin A. J Pers Soc Psychol. 1988 Nov;55(5):803-10. doi: 10.1037//0022-3514.55.5.803. PMID: 3210147.
10. Kugler J. Emotionale Befindlichkeit und Immunoglobulin A im Speichel--Eine Literaturübersicht [Emotional status and immunoglobulin A in saliva--review of the literature]. Psychother Psychosom Med Psychol. 1991 Jun;41(6):232-42. German. PMID: 1886976.
11. Shirtcliff EA, Granger DA, Schwartz E, Curran MJ. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. Psychoneuroendocrinology. 2001 Feb;26(2):165-73. doi: 10.1016/S0306-4530(00)00042-1. PMID: 11087962.
12. An Introduction to Radioimmunoassay and Related Techniques 5th Edition, Volume 6 - October 4, 1995
13. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
14. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. Clin Chem, 34, 1988, pp 27-33

19. IDENTIFICATORE DELLE REVISIONI

Le aggiunte o le modifiche alle istruzioni per l'uso sono indicate dall'evidenziazione in grigio.

20. RECLAMI SUI PRODOTTI E SUPPORTO TECNICO

Per un paziente/utente/terza parte nell'Unione Europea e nei Paesi con un regime normativo simile (Regolamento 2017/746/UE relativo ai dispositivi medico-diagnostici *in vitro*); se, durante l'uso di questo dispositivo o come risultato del suo utilizzo, si è verificato un incidente grave, segnalarlo al produttore e/o al suo rappresentante autorizzato e all'autorità normativa nazionale.

Il produttore può essere contattato tramite il relativo servizio clienti o il team di supporto tecnico. I dettagli di contatto sono disponibili di seguito e sul sito Web dell'azienda: www.diametra.com.

Ed. 11/2024

DCM078-11



DCM078-11

Ed. 11/2024

IgA SALIVA ELISA

Direct immunoenzymatic determination of IgA concentration in saliva

for routine analysis

IVD

LOT

See external label

2°C 8°C

 $\Sigma = 96$ tests

REF DKO078

1. INTENDED PURPOSE

For *In Vitro* Diagnostic Use

For Laboratory Professional Use

IgA Saliva ELISA is a manual *in vitro* diagnostic device intended for the quantitative determination of IgA in human saliva from an adult population.

2. CLINICAL SIGNIFICANCE

IgA represents about 15% to 20% of immunoglobulins in the blood, they are also found in the mucus secreted in the stomach, lungs and intestines. This prevents the microbes to bind to epithelial cells of the respiratory and digestive tract. This immunoglobulin helps to fight against pathogens that contact the body surface, are ingested, or are inhaled. It exists in two forms, IgA1 (90%) and IgA2 (10%) that differ in the structure. IgA1 is found in serum and made by bone marrow B cells; however, IgA2 is made by B cells located in the mucosae and has been found to secrete into, colostrum, maternal milk, tears and saliva.

The IgA found in secretions have a special form. They are dimeric molecules, linked by two additional chains. One of these is the J chain (from join), which is a polypeptide of molecular mass 1,5 kD, rich with cysteine and structurally completely different from other immunoglobulin chains. The dimeric form of IgA in the outer secretions also has a polypeptide of the same molecular mass (1,5 kD) called the secretory chain and is produced by epithelial cells.

Decreased or absent IgA, termed *selective IgA deficiency*, can be a clinically significant immunodeficiency.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The IgA Saliva ELISA is based on simultaneous binding of human IgA to two antibodies, one monoclonal antibody immobilised on the microwell plate and the other polyclonal conjugated with horseradish peroxidase (HRP).

After the incubation, the bound/free separation is performed by a simple solid phase washing. Then, the enzyme HRP in the bound fraction reacts with the Substrate (H₂O₂) and the TMB Substrate and develops a **blue colour** that changes into yellow when the Stop Solution (H₂SO₄) is added. The colour

intensity is proportional to the IgA concentration in the sample.

IgA concentration in the sample is calculated through a calibration curve.

4. REAGENTS, MATERIALS AND INSTRUMENTATION

4.1. Reagents and materials supplied in the kit

1. Calibrators (5 vial, 1 mL each)

ProClin >0.0015%

CAL0

REF DCE002/7806-0

CAL1

REF DCE002/7807-0

CAL2

REF DCE002/7808-0

CAL3

REF DCE002/7809-0

CAL4

REF DCE002/7810-0

2. IgA Saliva Control (1 vial, 1 mL)

Concentration of Control is indicated on the Certificate of Analysis. ProClin >0.0015%

REF DCE045/7803-0

3. 5X Conc. IgA Assay Buffer (1 vial, 40 mL)

Hepes buffer 25 mM pH 7.4; BSA 0.5 g/L, ProClin >0.0015%

REF DCE049/7849-0

4. 20X Conc. Conjugate (1 vial, 1 mL)

Anti- IgA antibody conjugated with horseradish peroxidase (HRP). ProClin >0.0015%, BSA 0.1%

REF DCE002/7802-0

5. Coated Microplate (1 microplate breakable)

Anti- IgA antibodies adsorbed on microplate

REF DCE002/7803-0

6. TMB Substrate (1 vial, 15 mL)

H₂O₂-TMB (0.26 g/L) (avoid any skin contact)

ProClin <0.0015%

REF DCE004-0

7. Stop Solution (1 vial, 15 mL)

Sulphuric acid 0.15M (avoid any skin contact)

REF DCE005-0

8. 50X Conc. Wash Solution (1 vial, 20 mL)

NaCl 45 g/L; Tween-20 55 g/L. ProClin >0.0015%

REF DCE006B-0

4.2. Materials required but not provided

Distilled water

4.3. Auxiliary materials and instrumentation

Automatic dispenser

Precision Pipetting Devices

Microplate reader (450 nm, 620-630 nm)

5. WARNINGS

- This kit is intended for *in vitro* use by professional persons only. Not for internal or external use in Humans or Animals.
- Use appropriate personal protective equipment while working with the reagents provided.
- Follow Good Laboratory Practice (GLP) for handling blood products.
-  Material of animal origin used in the preparation of the kit has been obtained from animals certified as healthy and the bovine protein has been obtained from countries not infected by BSE, but these materials should be handled as potentially infectious.
- Some reagents (calibrators, control, assay buffer, conjugate and wash solution) contain small amounts of ProClin™ 300 (>0.0015%, <0.06%) as preservative. Avoid contact with skin or mucosa.
- Classification according to Regulation (EC) No. 1272/2008 [CLP]

Skin sensitivity, Category 1



Warning

Contains: ProClin 300

Hazard statements:

H317 - May cause an allergic skin reaction.

Precautionary statements:

P261 - Avoid breathing dust / fume / gas / mist / vapours / spray.

P280 - Wear protective gloves/ protective clothing / eye protection / face protection / hearing protection.

P321 - Specific treatment (see supplemental first aid instruction on this label).

P333+P313 - If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.

P362+P364 - Take off contaminated clothing and wash it before reuse.

- The TMB Substrate contains an irritant, which may be harmful if inhaled, ingested or absorbed through the skin. To prevent injury, avoid inhalation, ingestion or contact with skin and eyes.
- The Stop Solution consists of a diluted sulphuric acid solution. Sulphuric acid is poisonous, corrosive and can be toxic if ingested. To prevent chemical burns, avoid contact with skin and eyes.
- Avoid the exposure of reagent TMB/H₂O₂ to direct sunlight, metals or oxidants. Do not freeze the solution.

6. PRECAUTIONS

- Please adhere strictly to the sequence of pipetting steps provided in this protocol. The performance data represented here were obtained using specific reagents listed in this Instruction For Use.

- All reagents should be stored refrigerated at 2 – 8°C in their original container. Any exceptions are clearly indicated.
- Allow all kit components and specimens to reach room temperature (22 – 28°C) and mix well prior to use.
- Do not interchange kit components from different lots. The expiry date printed on box and vials labels must be observed. Do not use any kit component beyond their expiry date.
- If you use automated equipment, the user has the responsibility to make sure that the kit has been appropriately validated for its intended use/purpose.
- The incomplete or inaccurate liquid removal from the wells could influence the assay precision and/or increase the background. To improve the performance of the kit on automatic systems is recommended to increase the number of washes.
- It is important that the time of reaction in each well is held constant for reproducible results. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If more than 10 minutes are needed, follow the same order of dispensation. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve in each plate
- Addition of the TMB Substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the Stop Solution. Therefore, the TMB Substrate and the Stop Solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during the reaction.
- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled sera.
- Maximum precision is required for reconstitution and dispensation of the reagents.
- Samples microbiologically contaminated, highly lipemic, icteric or haemolysed should not be used in the assay.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.
- Fresh disposable tips must be used when pipetting assay reagents including samples, calibrators and controls to mitigate the risk of carryover contamination. Failure to do so may lead to invalid results.

7. REAGENT STORAGE AND STABILITY

Store the kit at 2 – 8°C in the dark.

- The kit is stable at 2 – 8°C until the expiry date stated on the external kit label.
- Once opened, the kit is stable at 2 – 8°C for 6 months*.
- The diluted wash solution is stable for 30 days at 2 – 8°C.
- The diluted assay buffer solution is stable for 30 days at 2 – 8°C.
- The diluted conjugate solution is stable 3 hours at room temperature (22 – 28°C).

* in use stability data supports reagent stability when used three times within this period.

Important note: open the bag containing the Coated Microplate only when it is at room temperature and close it immediately after use.

8. SAMPLE COLLECTION AND STORAGE

The assay should be performed using saliva samples.

Sample Storage	Duration
2 – 8 °C	24 hours
Freeze/thaw cycles	1 cycle
-20°C	6 months

9. PROCEDURE

9.1. Preparation of Calibrators and Control

Before use, mix for 5 minutes with a rotating mixer. The calibrators are ready for use and have the following concentration:

	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
µg/mL	0	6.9	62	132	400

Note: The calibrator concentrations are 1000 times lower than the values reported in the reference range because the samples are diluted 1:1000, while the calibrators are not diluted.

The Calibrators concentrations to be entered used for calculations are reported in the above table.

The control is ready to use; the concentration is printed on the label.

9.2. Preparation of the IgA Assay Buffer

Dilute the content of the vial "5X Conc. IgA Assay Buffer" (reagent 3) with distilled or deionised water to a final volume of 160 mL prior to use. For smaller volumes respect the 1:5 dilution ratio.

9.3. Preparation of the Conjugate

Prepare immediately prior to use.

Add 50 µL of "20X Conc. Conjugate" (reagent 4) to 950 µL of diluted IgA Assay Buffer (refer to section 9.2). The volume of diluted conjugate is proportional to the number of tests to be performed. Mix gently for 5 minutes with a rotating mixer.

9.4. Preparation of the Wash Solution

Dilute the content of the vial "50X Conc. Wash Solution" with distilled water to a final volume of 1000 mL prior to use. For smaller volumes respect the 1:50 dilution ratio.

It is possible to observe the presence of crystals within the concentrated wash solution; in this case mix at room temperature until the complete dissolution of crystals. For greater accuracy, dilute the whole bottle of concentrated wash solution to 1000 mL, taking care also to transfer crystals completely by rinsing of the bottle, then mix until crystals are completely dissolved.

9.5. Preparation of Samples

The determination of IgA can be performed in human saliva samples.

It is advised to collect the sample using a centrifuge glass tube and a plastic straw.

Do not use plastic tubes or commercially available devices for saliva collection to avoid false results.

Let the saliva flow down through the straw into the centrifuge tube; then centrifuge at 3000 rpm per 15 minutes.

Prepare the sample by diluting the supernatant liquid 1:20 with diluted assay buffer (e.g.: 50 µL supernatant + 950 µL diluted assay buffer); then mix gently for at least 5 minutes on a rotating shaker.

Further dilute this 1:50 with diluted assay buffer (e.g.: 20 µL supernatant + 980 µL diluted assay buffer).

Final dilution obtained: 1:1000.

Store the sample at -20°C if the determination is not performed on the same day of the sample collection. Before using, mix gently, for 5 minutes, with a roller mixer.

9.6. Procedure

- **Allow all reagents to reach room temperature (22 – 28 °C) for at least 30 minutes.** At the end of the assay, immediately store the reagents at 2 – 8°C: avoiding long exposure to room temperature.
- Unused coated microwell strips should be released securely in the foil pouch containing desiccant and stored at 2 – 8°C.
- To avoid potential microbial and/or chemical contamination, unused reagents should never be transferred into the original vials.
- As it is necessary to perform the determination in duplicate in order to improve accuracy of the test results, prepare two wells for each point of the calibration curve (C₀-C₄), two for each Control, two for each sample, one for Blank.

Reagent	Calibrator	Sample/Control	Blank
Calibrator C ₀ -C ₄	25 µL		
Diluted samples / Control		25 µL	
Diluted conjugate	100 µL	100 µL	

Incubate 1 h at room temperature (22 – 28 °C).

Remove the contents from each well, wash the wells 3 times with 300 µL of diluted wash solution.

Important note: during each washing step, gently shake the plate for 5 seconds and remove excess solution by tapping the inverted plate on an absorbent paper towel.

Automatic washer: if you use automated equipment, wash the wells at least 5 times.

TMB Substrate	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Incubate at 22 – 28°C for 15 minutes in the dark.

Stop Solution	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Shake gently the microplate.
Read the absorbance (E) at 450 nm against a reference wavelength of 620-630 nm or against Blank within 5 minutes.

10. QUALITY CONTROL

Good Laboratory Practice (GLP) requires the use of quality control specimens in each series of assays in order to check the performance of the assay. Controls should be treated as unknown samples, and the results analysed with appropriate statistical methods.

The kit control provided in the kit should be tested as unknown and is intended to assist in assessing the validity of results obtained with each assay plate.

The mean concentration of the control level is documented in the QC report included with each kit. These mean concentration levels are determined over several assays which are run in duplicate in multiple locations across each plate.

DiaMetra recommends the users to maintain graphic records of the control values generated with each assay run, including the running means, SDs and %CVs. This information will facilitate the controls trending analysis relating to the performance of current and historical control lots relative to the supplied Quality Control data. The trending will assist in the identification of assays which give control values significantly different from their average range.

When interpreting control data, users should note that this product was designed and developed as a manual product. The range stated on the QC certificate should be appropriate for assays that are performed manually and with strict adherence to the Assay Procedure described above. It is recognised by Quality Control professionals, that as a result of differences in conditions and practices, there will always be variability in the mean values and precision of control measurements between different laboratories¹³.

11. CALCULATION OF RESULTS

A variety of data reduction software packages are available, which may be employed to generate the mean calibration curve and to calculate the mean concentrations of unknown samples and controls. A 4-parameter logistic (preferred) or smoothed cubic spline curve fit, **including Calibrator 0 is required.** Other curve fitting algorithms are not recommended.

Alternatively, a calibration curve may be prepared on semi-log graph paper by plotting mean absorbance on the Y-axis against concentration of analyte on the X-axis. Calibrator 0 should be included in the calibration curve. Read the mean absorbance value of each unknown sample off the curve.

In order for the assay results to be considered valid the kit calibrators and control must fall within the specifications detailed in the lot specific certificate of analysis.

If a control is out of its specified range, the associated test results are invalid and samples must be retested.

12. MEASURING RANGE

The assay measuring range (AMR) is 3 – 400 µg/mL. Any value that reads below 3 µg/mL should be reported as “< 3 µg/mL”. Any value that reads above 400 µg/mL should be reported as “> 400 µg/mL”.

13. METROLOGY AND TRACEABILITY

The IgA Saliva ELISA has been standardised against in-house reference standards (purified IgA in analyte-free buffered protein matrix).

14. UNCERTAINTY OF MEASUREMENT

The uncertainty associated with the measurement of the assay calibrators (C₀ – C₄) was determined following CLSI EP29-A “Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine; Approved Guideline”. The uncertainty for each calibrator level was assessed over a minimum of 5 days (1 run per day) by 3 different operators. Result from one representative lot:

Calibrator	Mean conc. (µg/mL)	Calibrator uncertainty U _c (µg /mL)
CAL0	<LoB	N/A
CAL1	7.0	0.54
CAL2	59.47	4.19
CAL3	140.34	18.21
CAL4	390.52	40.26

15. EXPECTED VALUES

Based on the literature data and on the results obtained with the IgA saliva ELISA, the range of normality is:

	IgA saliva
Range of normality	40 – 170 µg/mL

Please pay attention to the fact that the determination of a range of expected values for a “normal” population in a given method is dependent on many factors, such as specificity and sensitivity of the method used and type of population under investigation.

The above ranges should be considered as guidelines only; it is recommended that each laboratory establish its own expected range based upon its own patient population.

16. PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Representative performance data are shown. Results obtained at individual laboratories may vary.

16.1. Detection Capability

The limit of blank (LoB), limit of detection (LoD) and limit of quantitation (LoQ) were determined with guidance from CLSI EP17-A2, “Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation” using 6 blanks and 6 low level samples.

Sensitivity	µg/mL
Limit of Blank (LoB)	1.12 µg/mL
Limit of Detection (LoD)	2.3 µg/mL
Limit of Quantitation (LoQ)	3 µg/mL

16.2. Trueness

Trueness has been demonstrated through assessment of a serial dilution of a purified IgA standard prepared in-house.

16.3. Precision

Precision of the IgA Saliva ELISA was determined by performing a complex precision study.

Repeatability: A total of 5 saliva samples were assayed in 5 replicates, once a day for 5 days by 3 operators. Data from 1 representative lot is shown below:

Sample	n	Mean Conc. (µg/mL)	Repeatability	
			SD	CV%
1	75	6.4	0.7	11%
2	75	39.1	1.9	5%
3	75	95.4	4.7	5%
4	75	134.4	9.9	7%
5	75	294.7	19.5	7%

Reproducibility: A total of 5 saliva samples were assayed in 5 replicates, once a day for 5 days by 3 operators. Data from 1 representative lot is shown below:

Sample	n	Mean Conc. (µg/mL)	Reproducibility	
			SD	CV%
1	75	6.4	0.9	15%
2	75	39.1	3.4	9%
3	75	95.4	7.5	8%
4	75	134.4	11.6	9%
5	75	294.7	29.4	10%

16.4. Linearity

Linearity was evaluated based on CLSI EP-06 Ed2, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". A serial dilution of high and low saliva samples was prepared to create a panel from above the upper limit of linearity (ULL) to below the lower limit of quantitation (LLOQ).

For IgA concentration by IgA Saliva ELISA, the measurement procedure shows linearity for the interval from 3 to 407.33 µg/mL within the allowable deviation of linearity (ADL) of $\pm 15\%$ or $\pm 3\text{ µg/mL}$ for concentrations below LoQ.

16.5. Analytical Specificity

The specificity was assessed with the following cross-reactants.

Cross-reactant	Concentration tested (unit)	Mean %Cross reactivity
IgA1	40 µg/mL	80.2%
IgA2	40 µg/mL	11.4%
IgG	4000 µg/mL	0.1%
IgM	4000 µg/mL	0.3%

The following substances do not interfere with a bias of $>15\%$ in the IgA Saliva ELISA when the concentrations are below the stated threshold presented in the following table.

Potentially Interfering Reagent	Threshold Concentration
Albumin	1 g/dL
Citric acid	1%
Haemoglobin	200 mg/dL

16.6. Hook effect

The hook effect was tested using concentrations of analyte up to 600 µg/mL. No hook effect was observed.

17. LIMITATIONS OF USE

- As in the case of any diagnostic procedure, results must be interpreted in conjunction with the patient's clinical presentation and other information available to the physician.
- The performance characteristics of this assay have not been established in a paediatric population.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with *in vitro* immunoassays¹⁴. Patients routinely exposed to animals or to animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed.

18. WASTE MANAGEMENT

Reagents must be disposed of in accordance with local regulations.

All materials that have come into contact with samples and reagents must be disposed of in accordance with country, state and local regulations.

19. BIBLIOGRAPHY

1. Tomasi, T. B., Jr., 19770436857, English, Book, USA, 9780134516097, Englewood Cliffs, New Jersey, The immune system of secretions., (xii + 161pp.), Prentice-Hall Inc., The immune system of secretions., (1976)
2. Ben-Aryeh H, Fisher M, Szargel R, Laufer D. Composition of whole unstimulated saliva of healthy children: changes with age. Arch Oral Biol. 1990;35(11):929-31. doi: 10.1016/0003-9969(90)90075-I. PMID: 1704211.
3. Smith DJ, Taubman MA, Ebersole JL. Ontogeny and senescence of salivary immunity. J Dent Res. 1987 Feb;66(2):451-6. doi: 10.1177/00220345870660021101. PMID: 3040823.
4. Ventura MT. Evaluation of IgA1-IgA2 levels in serum and saliva of young and elderly people. Allergol Immunopathol (Madr). 1991 Sep-Oct;19(5):183-5. PMID: 1811413.
5. Kugler J, Hess M, Haake D. Secretion of salivary immunoglobulin A in relation to age, saliva flow, mood states, secretion of albumin, cortisol, and catecholamines in saliva. J Clin Immunol. 1992 Jan;12(1):45-9. doi: 10.1007/BF00918272. PMID: 1551941.
6. Jemmott JB 3rd, McClelland DC. Secretory IgA as a measure of resistance to infectious disease: comments on Stone, Cox, Valdimarsdottir, and Neale. Behav Med. 1989 Summer;15(2):63-71. doi: 10.1080/08964289.1989.9935153. PMID: 2663100.
7. Gregory RL, Kim DE, Kindle JC, Hobbs LC, Lloyd DR. Immunoglobulin-degrading enzymes in localized juvenile periodontitis. J Periodontal Res. 1992 May;27(3):176-83. doi: 10.1111/j.1600-0765.1992.tb01666.x. PMID: 1318974.
8. Ruan MS. [The relation of secretory IgA and caries]. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 1990 May;25(3):158-60, 190. Chinese. PMID: 2120009.
9. Jemmott JB 3rd, Magloire K. Academic stress, social support, and secretory immunoglobulin A. J Pers Soc Psychol. 1988 Nov;55(5):803-10. doi: 10.1037//0022-3514.55.5.803. PMID: 3210147.
10. Kugler J. Emotionale Befindlichkeit und Immunglobulin A im Speichel--Eine Literaturübersicht [Emotional status and immunoglobulin A in saliva--review of the literature]. Psychother Psychosom Med Psychol. 1991 Jun;41(6):232-42. German. PMID: 1886976.
11. Shirtcliff EA, Granger DA, Schwartz E, Curran MJ. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. Psychoneuroendocrinology. 2001 Feb;26(2):165-73. doi: 10.1016/s0306-4530(00)00042-1. PMID: 11087962.
12. An Introduction to Radioimmunoassay and Related Techniques 5th Edition, Volume 6 - October 4, 1995
13. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
14. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. Clin Chem, 34, 1988, pp 27-33

20. REVISION IDENTIFIER

Additions or changes to the IFU are indicated by grey highlighting.

21. PRODUCT COMPLAINTS AND TECHNICAL SUPPORT

For a patient/user/third party in the European Union and in countries with similar regulatory regime (Regulation 2017/746/EU on IVD Medical Devices); if, during the use of this device or as a result of its use, a serious incident has occurred, please report it to the manufacturer and/or its authorised representative and to your national regulatory authority.

The manufacturer can be contacted through their customer service or technical support team. The contact details can be found below and on the company website: www.diametra.com.

Ed. 11/2024

DCM078-11



DCM078-11

Ed. 11/2024

IgA SALIVA ELISA

Determinación inmunoenzimática directa de IgA en la saliva

para análisis de rutina

IVD

LOT

Ver etiqueta externa

2°C 8°C

 $\Sigma = 96$ tests

REF DKO078

1. FINALIDAD PREVISTA

Para uso en diagnóstico *in vitro*

Para uso profesional de laboratorio

El ensayo IgA Saliva ELISA es un dispositivo manual de diagnóstico *in vitro* destinado a la determinación cuantitativa de la concentración de IgA en la saliva de una población adulta.

2. SIGNIFICADO CLÍNICO

Las IgA representan aproximadamente el 15% - 20% de las inmunoglobulinas en la sangre. También se encuentran en el moco secretado en el estómago, en los pulmones y en el intestino. Impiden que los microbios se unan a las células epiteliales de las vías respiratorias y del tracto digestivo. Esta inmunoglobulina interviene en los procesos inmunitarios contra los agentes patógenos de la piel, de las vías respiratorias o del tracto gastrointestinal. Existe en dos formas, IgA1 (90%) e IgA2 (10%), que se diferencian por la estructura. La IgA1 se encuentra en el suero y es secretada por las células B en la médula ósea. La IgA2 es secretada por las células B situadas en las mucosas y se ha encontrado en el calostro, en la leche materna, en las lágrimas y en la saliva.

La IgA secretada presenta una estructura dimérica, unida por dos cadenas suplementarias. Una de estas es la cadena J (de "join", unión), que es un polipéptido de 1,5 kDa, rico en cisteína y con una estructura completamente diferente de las demás cadenas de inmunoglobulinas. La forma dimérica de IgA secretada externamente presenta un polipéptido de la misma masa molecular (kDa 1,5), se denomina cadena secretora y es sintetizada por las células epiteliales.

La disminución o ausencia de IgA, definida como deficiencia selectiva de IgA, puede ser una inmunodeficiencia clínicamente significativa.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El ensayo IgA Saliva ELISA se basa en la captura simultánea de la IgA humana por parte de dos anticuerpos: uno monoclonal inmovilizado en la microplaca y otro policlonal conjugado con peroxidasa de rabano (HRP).

Tras la incubación, la separación ligada/libre se realiza mediante un simple lavado en fase sólida. A continuación,

la enzima HRP de la fracción ligada reacciona con el sustrato (H_2O_2) y el sustrato de TMB, y desarrolla un color azul que cambia a amarillo cuando se añade la solución de detención (H_2SO_4). La intensidad del color es proporcional a la concentración de IgA de la muestra.

La concentración de IgA de la muestra se calcula mediante una curva de calibración.

4. REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTACIÓN

4.1. Reactivos y materiales incluidos en el kit

1. Calibradores (5 viales de 1,2 mL cada uno)

ProClin >0,0015%

CAL0

REF DCE002/7806-0

CAL1

REF DCE002/7807-0

CAL2

REF DCE002/7808-0

CAL3

REF DCE002/7809-0

CAL4

REF DCE002/7810-0

2. IgA Saliva Control (1 frasco al, 1 mL)

La concentración del Control se indica en el certificado de calidad (Certificate of Analysis). ProClin >0,0015%

REF DCE045/7803-0

3. Tampón de ensayo de IgA conc. 5X (1 frasco, 40 mL)

Tampón Hepes 25 mM pH 7,4; BSA 0,5 g/L, ProClin >0,0015%

REF DCE049/7849-0

4. Conjugado conc. 20X (1 frasco, 1 mL)

Anticuerpo anti IgA conjugado con peroxidasa de rabano (HRP). ProClin >0,0015%, BSA 0,1%

REF DCE002/7802-0

5. Microplaca recubierta (1 microplaca rompible)

Anticuerpo anti IgA absorbido en la microplaca

REF DCE002/7803-0

6. Sustrato TMB (1 frasco, 15 mL)

H_2O_2 -TMB (0.26 g/L) (evitar el contacto con la piel)

ProClin <0.0015%

REF DCE004-0

7. Solución de parada (1 frasco, 15 mL)

Ácido sulfúrico 0,15M (evitar el contacto con la piel)

REF DCE005-0

8. Solución de lavado conc. 50X (1 frasco, 20 mL)

NaCl 45 g/L; Tween-20 55 g/L. ProClin >0,0015%

REF DCE006B-0

4.2. Reactivos necesarios no suministrados en el kit

Agua destilada.

4.3. Material e instrumentación auxiliares

Dispensadores automáticos.

Dispositivos de pipetas de precisión

Lector de microplacas (450 nm, 620-630 nm)

5. ADVERTENCIAS

- Este kit está destinado al uso in vitro realizado exclusivamente por profesionales. No es para uso interno o externo en personas ni animales.
- Utilice el equipo de protección personal adecuado cuando trabaje con los reactivos suministrados.
- Siga las prácticas de laboratorio recomendadas (BPL) para manipular productos sanguíneos.
-  El material de origen animal utilizado en la preparación del kit se ha obtenido de animales certificados como sanos y la proteína bovina se ha obtenido de países donde no hay infección de ESB, pero estos materiales deben manejarse como potencialmente infecciosos.
- Algunos reactivos (conjugado, control, **tampón de ensayo**, conjugado y solución de lavado) contienen pequeñas cantidades de ProClin™ 300 (>0,0015 %, <0,06 %) como conservante. Evite el contacto con la piel o las mucosas.
- Clasificación según Reglamento (UE) n° 1272/2008 [CLP]

Sensibilización cutánea, categoría 1



Atención

Contiene: ProClin 300

Indicaciones de peligro:

H317 - Puede provocar una reacción alérgica en la piel.

Consejos de prudencia:

- P261 - Evitar respirar el polvo / el humo / el gas / la niebla / los vapores / el aerosol.
P280 - Llevar guantes / ropa de protección / equipo de protección para los ojos / la cara / los oídos.
P321 - Se necesita un tratamiento específico (ver instrucciones de primeros auxilios en esta etiqueta).
P333+P313 - En caso de irritación o erupción cutánea: Consultar a un médico.
P362+P364 - Quitar las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
- El cromógeno TMB contiene un irritante que puede ser dañino si se inhala, se ingiere o se absorbe a través de la piel. Para prevenir lesiones, evitar la inhalación, la ingestión o el contacto con la piel y con los ojos.
 - La solución de parada está formada por una solución de ácido sulfúrico diluido. El ácido sulfúrico es venenoso y corrosivo, y puede ser tóxico si se ingiere. Para prevenir posibles quemaduras químicas, evitar el contacto con la piel y con los ojos.
 - Evite la exposición de los reactivos TMB/H₂O₂ a la luz solar directa, metales u oxidantes. No congelar la solución.

6. PRECAUCIONES

- Siga estrictamente la secuencia de pasos de pipeteado que se indica en este protocolo. Los datos de rendimiento representados en este documento se obtuvieron utilizando los reactivos específicos indicados en estas instrucciones de uso.
- Todos los reactivos deben conservarse refrigerados entre 2 y 8 °C en su envase original. Las excepciones se indican claramente.
- Deje que todos los componentes del kit y las muestras alcancen la temperatura ambiente (22-28 °C) y mezcle bien antes de usarlos.
- No intercambie componentes del kit procedentes de diferentes lotes. Debe respetarse la fecha de caducidad impresa en las etiquetas de la caja y de los viales. No utilice ningún componente del kit después de su fecha de caducidad.
- Si el usuario utiliza un equipo automatizado, tiene la responsabilidad de asegurarse de que el kit ha sido debidamente **validado para su uso previsto**.
- La eliminación incompleta o imprecisa del líquido de los pocillos podría alterar la precisión del ensayo y/o aumentar el fondo. Para mejorar el rendimiento del kit en sistemas automáticos se recomienda aumentar el número de lavados.
- Es importante que el tiempo de reacción en cada pocillo se mantenga constante para obtener resultados reproducibles. El pipeteo de las muestras no debe prolongarse más de diez minutos para evitar errores en el ensayo. Si se necesitan más de 10 minutos, siga el mismo orden de dispensación. Si se utiliza más de una placa, se recomienda repetir la curva dosis-respuesta en cada placa.
- La adición de la solución de sustrato de TMB inicia una reacción cinética, que finaliza al añadir la solución de detención. Por lo tanto, el sustrato de TMB y la solución de detención deben añadirse en la misma secuencia para eliminar las posibles desviaciones temporales durante la reacción.
- Respete las directrices para realizar el control de calidad en los laboratorios médicos mediante el ensayo de controles y/o sueros combinados.
- Se requiere la máxima precisión en la reconstitución y dispensación de los reactivos.
- No se deben usar en el ensayo muestras contaminadas microbiológicamente, muy lipémicas, ictericas o hemolizadas.
- Los lectores de placas miden en vertical. No toque el fondo de los pocillos.
- Deben emplearse puntas desechables nuevas al pipetear reactivos de ensayo, incluidas las muestras, los calibradores y los controles, para mitigar el riesgo de contaminación por arrastre. De lo contrario, los resultados podrían no ser válidos.

7. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Almacene el kit a 2-8 °C en un lugar oscuro.

- El kit es estable a 2-8 °C hasta la fecha de caducidad indicada en su etiqueta externa.
- Una vez abierto, el kit es estable a 2-8 °C durante 6 meses*.
- La solución de lavado diluida es estable durante 30 días a 2-8 °C.
- El tampón de ensayo diluido es estable durante 30 días a 2-8 °C.
- El conjugado diluido es estable durante 3 horas a temperatura ambiente (22 – 28 °C).

* Los datos de estabilidad en uso confirman la estabilidad del reactivo cuando se utiliza tres veces dentro de este período.

Nota importante: abra la bolsa que contiene la microplaca recubierta solo cuando esté a temperatura ambiente y ciérrela inmediatamente después de su uso.

8. RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

El ensayo debe realizarse utilizando muestras de saliva.

Almacenamiento de muestras	Duración
2 – 8 °C	24 hours
Ciclos de congelación/descongelación	1 cycle
-20°C	6 months

9. PROCEDIMIENTO

9.1. Preparación de calibradores y controles

Antes de utilizarlos, mezclar durante 5 minutos con una batidora giratoria.

Los calibradores están listos para utilizarse y tienen las siguientes concentraciones:

	C ₀	C ₁	C ₂	C ₃	C ₄
µg/mL	0	6,9	62	132	400

Las concentraciones de los Calibradores son 1000 veces inferiores con respecto a las del rango de referencia, puesto que en el método estas se dispensan tal cual mientras que las muestras experimentan una dilución 1:1000.

Las concentraciones de calibradores que se deben ingresar para los cálculos se informan en la tabla anterior.

El control está listo para usar, la concentración está impresa en la etiqueta.

9.2. Preparación del tampón de ensayo de IgA

Diluir el contenido del vial «Tampón de ensayo de IgA conc. 5X» (reactivo 3) con agua destilada hasta un volumen final de 160 mL antes de usarlo. Para volúmenes más pequeños, respete la relación de dilución de 1:5.

9.3. Preparación del conjugado diluido

Preparar inmediatamente antes del uso.

Diluir 50 µL de «Conjugado conc. 20X» (reactivo 4) con 950 µL de tampón de ensayo (consulte la sección 9.3) diluido. La cantidad de conjugado que se debe preparar es proporcional al número de ensayos.

Agitar con cuidado durante 5 minutos con un agitador giratorio.

9.4. Preparación de la solución de lavado

Diluir el contenido del vial «50X Conc. Wash Solution» con agua destilada hasta un volumen final de 1000 mL antes de usarlo. Para volúmenes más pequeños, respete la relación de dilución de 1:50.

Es posible que observe la presencia de cristales dentro de la solución de lavado concentrada; en este caso, mezcle a temperatura ambiente hasta la completa disolución de los cristales. Para una mayor precisión, diluya todo el frasco de solución de lavado concentrada a 500 mL, teniendo cuidado también de transferir los cristales enjuagando completamente el frasco y luego mezclando hasta que los cristales se disuelvan completamente.

9.5. Preparación de la muestra

La determinación de IgA se puede realizar en muestras de saliva humana.

Para la obtención de la muestra se recomienda usar tubos de vidrio de centrífuga y una cánula de plástico. Hacer fluir la saliva a través de la cánula hasta el tubo de vidrio y centrifugar la muestra durante 15 minutos a 3000 rpm. No usar tubos de plástico o dispositivos disponibles en el mercado, ya que podrían alterar el resultado analítico.

Preparar la solución A para cada muestra diluyendo 1:20 el líquido sobrenadante de la muestra de saliva en tampón de ensayo diluido (50 µL a 1 mL); a continuación, agitar con cuidado cada solución A dejando al menos 5 minutos en el agitador giratorio y diluirla 1:50 con tampón de ensayo diluido (ej: 20 µL a 1 mL). Dilución final de la muestra obtenida: 1:1000.

Almacenar la muestra a –20 °C si la determinación no se lleva a cabo el mismo día que se recoge la muestra. Antes de utilizar, mezclar suavemente durante 5 minutos con un mezclador de rodillos.

9.6. Procedimiento

- **Deje que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (22-28 °C) durante al menos 30 minutos.** Al finalizar el ensayo, almacene inmediatamente los reactivos a 2-8 °C: evite la exposición prolongada a la temperatura ambiente.
- Las tiras de micropocillos recubiertas no utilizadas deben dejarse de forma segura en el envoltorio de papel de aluminio que contiene desecante y almacenarse a 2-8 °C.
- Para evitar que se produzca una posible contaminación microbiana o química, los reactivos no utilizados nunca se deberán transferir a los viales originales.
- Como es necesario realizar la determinación por duplicado para mejorar la precisión de los resultados de la prueba, prepare dos pocillos para cada punto de la curva de calibración (C₀-C₄), dos por cada control, dos para cada muestra y uno para el blanco.

Reactivo	Calibrador	Muestra/control	Blanco
Calibrador C ₀ -C ₄	25 µL		
Muestra diluida /Control		25 µL	
Conjugado diluido	100 µL	100 µL	

Incubar 1 hora a temperatura ambiente (22 – 28 °C).

Retirar la mezcla de reacción, lavar 3 veces cada pocillo con 0,3 mL de solución de lavado diluida.

Nota importante: agite suavemente la placa durante 5 segundos en cada paso del lavado. Después del último lavado asegúrese haber eliminado completamente la solución de lavado de los pozos invierta la placa y golpéela repetidas veces contra una servilleta de papel absorbente.

Lavados automáticos: si está utilizando una lavadora automática, lavar los pocillos al menos 5 veces.

Substrato TMB	100 µL	100 µL	100 µL
---------------	--------	--------	--------

Incubar 15 minutos en la oscuridad a temperatura ambiente (22 – 28°C).

Solución de parada	100 µL	100 µL	100 µL
--------------------	--------	--------	--------

Agitar la microplaca con cuidado.

Leer la absorbancia (E) a 450 nm frente una segunda lectura de referencia a 620-630 nm o frente al blanco dentro de los 5 minutos.

10. CONTROL DE CALIDAD

Las prácticas de laboratorio recomendadas (BPL) requieren el uso de muestras de control de calidad en cada serie de ensayos para comprobar el rendimiento del ensayo. Los controles deberán tratarse como muestras desconocidas y los resultados deberán analizarse con métodos estadísticos adecuados.

Los controles incluidos en el kit deberán ser probados como desconocidos y están destinados a ayudar a evaluar la validez de los resultados obtenidos con cada placa de ensayo.

La concentración media de cada nivel de control se documenta en el informe de control de calidad que se incluye en cada kit. Los niveles de concentración media se determinan respecto de varios análisis, los cuales se realizan por duplicado en varios puntos diferentes de cada placa.

DiaMetra recomienda que los usuarios mantengan registros gráficos de los valores de control que se generan con cada ensayo, incluida la media de ejecución, la DE (desviación estándar) y el % CV. Esta información facilitará los ensayos de tendencia de los controles relacionados con el rendimiento de lotes de control actuales e históricos relativos a los datos de control de calidad proporcionados. La tendencia facilitará la identificación de los ensayos que

generan valores de control significativamente distintos de su intervalo medio.

Al interpretar los datos de control, los usuarios deberán tener en cuenta que este producto fue diseñado y desarrollado como un producto manual. El rango establecido en el certificado de control de calidad deberá ser adecuado para los ensayos que se realizan manualmente y en estricto cumplimiento del procedimiento de ensayo anteriormente descrito. Los profesionales del control de la calidad reconocen que, como resultado de las diferencias en las condiciones y en las prácticas, siempre habrá variaciones entre laboratorios en los valores medios y en la precisión de las mediciones de control¹³.

11. CÁLCULO DE LOS RESULTADOS

Hay disponibles diversos paquetes de software de reducción de datos que se pueden utilizar para generar el promedio de la curva de calibración y para calcular el promedio de las concentraciones de muestras y controles desconocidos. Es necesario un ajuste de curva modelo logístico de 4 parámetros (preferido) o modelo spline cúbico **incluido el calibrador 0**. No se recomiendan otros algoritmos de ajuste de curva.

También se puede preparar una curva de calibración en papel semilogarítmico mediante el trazado de la absorbancia media en el eje Y frente a la concentración de analitos en el eje X. El calibrador 0 debe incluirse en la curva de calibración. Lea el valor de absorbancia medio de cada muestra desconocida que se encuentra fuera de la curva.

Para que los resultados del ensayo se consideren válidos, los calibradores y el control del kit deben ajustarse a las especificaciones detalladas en el certificado de análisis específico del lote.

Si un control está fuera de su rango especificado, los resultados de la prueba asociados no son válidos y se deben volver a realizar pruebas de las muestras.

12. RANGO DE MEDICIÓN

El rango de medición del ensayo (AMR) es de 3 – 400 µg/mL.

Cualquier valor que sea inferior a 3 µg/mL debe informarse como "<3 µg/mL ". Cualquier valor que sea superior a 400 µg/mL debe informarse como ">400 µg/mL ".

13. METROLOGÍA Y TRAZABILIDAD

La prueba IgA Saliva ELISA se ha estandarizado respecto a estándares de referencia internos (IgA purificada en matriz de proteína tamponada sin analitos).

14. INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN

La incertidumbre asociada a la medición de los calibradores del ensayo (C₀ – C₅) se determinó siguiendo CLSI EP29-A "Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine; Approved Guideline". 3 operadores diferentes evaluaron la incertidumbre para cada nivel del calibrador durante un mínimo de 5 días (1 análisis por día). Resultado de un lote representativo:

Calibrador	Conc. media. (µg/mL)	Incertidumbre del calibrador Uc (µg /mL)
CAL0	<LoB	N/A
CAL1	7,0	0,54
CAL2	59,47	4,19
CAL3	140,34	18,21
CAL4	390,52	40,26

15. VALORES ESPERADOS

Tomando como base los datos en la literatura y los resultados obtenidos con el kit IgA Saliva ELISA, se ha establecido el siguiente rango de normalidad:

	IgA saliva
Rango de normalidad	40 – 170 µg/mL

Es importante señalar que la determinación de un rango de valores esperados en un método dado para una población "normal" depende de muchos factores, tales como la especificidad y sensibilidad del método en uso, y la población en estudio.

Los rangos anteriores deberán ser considerados como directrices solamente; se recomienda que cada laboratorio establezca su propio rango previsto en función de su propia población de pacientes.

16. CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO

Se muestran los datos de rendimiento representativos. Los resultados obtenidos en diferentes laboratorios pueden diferir.

16.1. Capacidad de detección

El límite de blanco (LoB), el límite de detección (LoD) y el límite de cuantificación (LoQ) se determinaron con orientación del documento CLSI EP17-A2, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation" usando 6 blancos y 6 muestras de bajo nivel.

Sensibilidad	µg/mL
Límite de blanco (LoB)	1,12 µg/mL
Límite de detección (LoD)	2,3 µg/mL
Límite de cuantificación (LoQ)	3 µg/mL

16.2. Veracidad

La veracidad se ha demostrado mediante la evaluación de una dilución en serie de un estándar de IgA purificada preparado internamente.

16.3. Precisión

La precisión de IgA Saliva ELISA se determinó mediante la realización de un estudio de precisión complejo.

Repetibilidad: La evaluación combina la variabilidad intraprueba, entre pruebas, entre días y entre operadores. Se analizaron un total de 5 muestras en 5 réplicas, una vez al día durante 5 días por 3 operadores. A continuación, se muestran los datos de 1 lote representativo:

Muestra	n	Concentración media (µg/mL)	Repetibilidad SD	CV%
1	75	6,4	0,7	11%
2	75	39,1	1,9	5%
3	75	95,4	4,7	5%
4	75	134,4	9,9	7%
5	75	294,7	19,5	7%

Reproducibilidad: La evaluación combina la variabilidad intraprueba, entre pruebas, entre días y entre operadores. Se analizaron un total de 5 muestras en 5 réplicas, una vez al día durante 5 días por 3 operadores. A continuación, se muestran los datos de 1 lote representativo:

Muestra	n	Concentración media (µg/mL)	Reproducibilidad SD	CV%
1	75	6,4	0,9	15%
2	75	39,1	3,4	9%
3	75	95,4	7,5	8%
4	75	134,4	11,6	9%
5	75	294,7	29,4	10%

16.4. Linealidad

La linealidad se evaluó en base a CLSI EP-06, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". Se preparó una dilución en serie de muestras altas y bajas de suero para crear un panel desde por encima del límite superior de linealidad (ULL) hasta por debajo del límite inferior de cuantificación (LLOQ).

Para la concentración de IgA mediante el ensayo IgA Saliva ELISA, el procedimiento de medición muestra linealidad para el intervalo de 3 a 407,33 µg/mL dentro de la desviación de linealidad permitida (ADL) de $\pm 15\%$ o ± 3 µg/mL para concentraciones inferiores a LoQ.

16.5. Especificidad analítica

La especificidad se evaluó con los siguientes reaccionantes cruzados.

Reaccionante cruzado	Concentración analizada	Promedio en % de reactividad cruzada
IgA1	40 µg/mL	80,2%
IgA2	40 µg/mL	11,4%
IgG	4000 µg/mL	0,1%
IgM	4000 µg/mL	0,3%

Las siguientes sustancias no interfieren con un sesgo de $> \pm 15\%$ en el ensayo IgA Saliva ELISA cuando las concentraciones están por debajo del umbral indicado presentado en la siguiente tabla.

Reactivos que pueden interferir	Límite máximo de concentración
Albúmina	1 g/dL
Acido cítrico	1%
Hemoglobina	200 mg/dL

16.6. Efecto gancho

El efecto gancho se probó utilizando concentraciones de analito de hasta 600 µg/mL. No se observó efecto gancho.

17. LÍMITES DE USO

- Como en cualquier procedimiento diagnóstico, los resultados se deberán interpretar junto con los hallazgos clínicos del paciente y otra información de la que el médico disponga.
- Las características de rendimiento de este análisis no se han establecido para una población pediátrica.
- Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar ante las inmunoglobulinas reactivas, que interfieren con los inmunoensayos in vitro¹⁴. Los pacientes que se exponen habitualmente a animales o a productos de suero animal pueden ser propensos a esta interferencia y puede que se observen valores anómalos.

18. GESTIÓN DE RESIDUOS

Los reactivos deben eliminarse de acuerdo con la normativa local.

Todos los materiales que hayan entrado en contacto con las muestras y los reactivos deben eliminarse de acuerdo con la normativa nacional, estatal y local.

19. BIBLIOGRAFÍA

1. Tomasi, T. B., Jr., 19770436857, English, Book, USA, 9780134516097, Englewood Cliffs, New Jersey, The immune system of secretions., (xii +

161pp.), Prentice-Hall Inc., The immune system of secretions., (1976)

2. Ben-Aryeh H, Fisher M, Szargel R, Laufer D. Composition of whole unstimulated saliva of healthy children: changes with age. Arch Oral Biol. 1990;35(11):929-31. doi: 10.1016/0003-9969(90)90075-I. PMID: 1704211.
3. Smith DJ, Taubman MA, Ebersole JL. Ontogeny and senescence of salivary immunity. J Dent Res. 1987 Feb;66(2):451-6. doi: 10.1177/00220345870660021101. PMID: 3040823.
4. Ventura MT. Evaluation of IgA1-IgA2 levels in serum and saliva of young and elderly people. Allergol Immunopathol (Madr). 1991 Sep-Oct;19(5):183-5. PMID: 1811413.
5. Kugler J, Hess M, Haake D. Secretion of salivary immunoglobulin A in relation to age, saliva flow, mood states, secretion of albumin, cortisol, and catecholamines in saliva. J Clin Immunol. 1992 Jan;12(1):45-9. doi: 10.1007/BF00918272. PMID: 1551941.
6. Jemmott JB 3rd, McClelland DC. Secretory IgA as a measure of resistance to infectious disease: comments on Stone, Cox, Valdimarsdottir, and Neale. Behav Med. 1989 Summer;15(2):63-71. doi: 10.1080/08964289.1989.9935153. PMID: 2663100.
7. Gregory RL, Kim DE, Kindle JC, Hobbs LC, Lloyd DR. Immunoglobulin-degrading enzymes in localized juvenile periodontitis. J Periodontal Res. 1992 May;27(3):176-83. doi: 10.1111/j.1600-0765.1992.tb01666.x. PMID: 1318974.
8. Ruan MS. [The relation of secretory IgA and caries]. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 1990 May;25(3):158-60, 190. Chinese. PMID: 2120009.
9. Jemmott JB 3rd, Magloire K. Academic stress, social support, and secretory immunoglobulin A. J Pers Soc Psychol. 1988 Nov;55(5):803-10. doi: 10.1037//0022-3514.55.5.803. PMID: 3210147.
10. Kugler J. Emotionale Befindlichkeit und Immunoglobulin A im Speichel--Eine Literaturübersicht [Emotional status and immunoglobulin A in saliva--review of the literature]. Psychother Psychosom Med Psychol. 1991 Jun;41(6):232-42. German. PMID: 1886976.
11. Shirtcliff EA, Granger DA, Schwartz E, Curran MJ. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. Psychoneuroendocrinology. 2001 Feb;26(2):165-73. doi: 10.1016/S0306-4530(00)00042-1. PMID: 11087962.
12. An Introduction to Radioimmunoassay and Related Techniques 5th Edition, Volume 6 - October 4, 1995
13. Basic QC Practices On-line Course; <http://www.Westgard.com>.
14. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. Clin Chem, 34, 1988, pp 27-33

20. IDENTIFICADOR DE REVISIÓN

Las adiciones o cambios en las instrucciones de uso se han resaltado en gris.

21. RECLAMACIONES SOBRE PRODUCTOS Y ASISTENCIA TÉCNICA

Para un paciente/usuario/tercero en la Unión Europea y en países con un régimen regulatorio similar: Reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro; si, durante el uso de este dispositivo o como resultado de su uso, se ha producido un incidente grave, informe del mismo al fabricante o a su representante autorizado y al organismo regulador nacional.

Puede contactar con el fabricante a través del servicio de atención al cliente o del equipo de asistencia técnica. Los datos de contacto se encuentran a continuación y en el sitio web de la empresa: www.diametra.com.

Ed. 11/2024

DCM078-11

	DE <i>In vitro</i> Diagnostikum ES Producto sanitario para diagnóstico <i>In vitro</i> FR Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> EN <i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device IT Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> PT Dispositivos medicos de diagnostico <i>in vitro</i>		DE Hergestellt von ES Elaborado por FR Fabriqué par EN Manufacturer IT Produttore PT Produzido por
	DE Achtung, Begleitdokumente ES Precaución, consulte los documentos adjuntos FR Attention, veuillez consulter les documents d'accompagnement EN Caution, consult accompanying documents IT Attenzione, consultare la documentazione allegata PT Atenção, consultar os documentos de acompanhamento	 yyyy-mm	DE Herstellungs datum ES Fecha de fabricacion FR Date de fabrication EN Date of manufacture IT Data di produzione PT Data de produção
 yyyy-mm-dd	DE Verwendbar bis ES Estable hasta (usar antes de último día del mes) FR Utiliser avant (dernier jour du mois indiqué) EN Use by (last day of the month) IT Utilizzare prima del (ultimo giorno del mese) PT Utilizar (antes ultimo dia do mês)		DE Biogefährdung ES Riesco biológico FR Risque biologique EN Biological risk IT Rischio biologico PT Risco biológico
	DE Gebrauchsanweisung beachten ES Consultar las instrucciones FR Consulter le mode d'emploi EN Consult instructions for use IT Consultare le istruzioni per l'uso PT Consultar instruções para uso		DE Chargenbezeichnung ES Código de lote FR Numero de lot EN Batch code IT Codice del lotto PT Código do lote
 $\Sigma = xx$	DE Ausreichend für "n" Tests ES Contenido suficiente para "n" tests FR Contenu suffisant pour "n" tests EN Contains sufficient for "n" tests IT Contenuto sufficiente per "n" saggi PT Contém o suficiente para "n" testes		DE Inhalt ES Contenido del estuche FR Contenu du coffret EN Contents of kit IT Contenuto del kit PT Conteúdo do kit
 Max Min	DE Temperaturbereich ES Limitación de temperatura FR Limites de température de conservation EN Temperature limitation IT Limiti di temperatura PT Temperaturas limites de conservação		DE Bestellnummer ES Número de catálogo FR Références du catalogue EN Catalogue number IT Numero di Catalogo PT Número do catálogo
	DE Vor direkter Sonneneinstrahlung schützen ES Mantener alejado de la luz solar FR Tenir à l'écart de la lumière du soleil EN Keep away from sunlight IT Tenere lontano dalla luce solare PT Mantenha longe da luz solar		