

Technical White Paper: Testing a New User-Friendly Instrument to Measure Immune System Strength Through Salivary IgA Levels

Authors: Vieira-Brock, P.L., & Vollmer, D.L.

Date: June 2017

Objective

Determine the effectiveness of a new user-friendly instrument that can measure immune system strength from IgA in human saliva

Background

Salivary IgA is a marker of immune system activity. IgA, also known as antibodies, stands for immunoglobulin A. Your body produces IgA as your first line of defense against external invaders. It can be found in saliva, tears, sweat, and the gastrointestinal tract.

Typically, salivary IgA is determined by a laboratory test in which samples are sent to a specialized laboratory for testing. A new instrument that is small, portable, and easy to use has been developed by SOMA Biosciences and used in small settings in Europe to assess immune status of elite athletes. In this study, 4Life tested the reliability of this instrument for potential future use by 4Life distributors.

Experimental Methods

For this study, we recruited eight healthy adults and provided them with instructions on how to collect the saliva sample. This protocol included a questionnaire assessing the last time the participant ate, drank, or brushed their teeth. Participants were also given instructions to keep the oral fluid collector on top of the tongue without moving or sucking on it until the collector indicator turned blue. The oral fluid collector was immediately placed into an individual buffer bottle.

Each buffer bottle was inverted for two minutes. Two drops from each sample was added to the lateral flow device (LFD) and incubated for ten

Informe técnico: Evaluación de un nuevo instrumento fácil de usar para medir la fortaleza del sistema inmunitario mediante el nivel de IgA salival

Autores: Vieira-Brock, P.L. y Vollmer, D.L.

Fecha: junio de 2017

Objetivo

Determinar la efectividad de un nuevo instrumento fácil de usar que puede medir la fortaleza del sistema inmunitario a partir de la IgA en la saliva humana.

Antecedentes

La IgA salival es un indicador de la actividad del sistema inmunitario. La IgA, también conocida como anticuerpos, es la abreviatura de inmunoglobulina A. Tu cuerpo produce IgA como tu primera línea de defensa ante los invasores externos y puede encontrarse en la saliva, las lágrimas, el sudor y el tracto gastrointestinal. Usualmente la IgA salival se determina mediante un examen de laboratorio para el que se envían muestras a un laboratorio especializado para ser examinadas. Un instrumento nuevo que es pequeño, portátil y fácil de usar ha sido desarrollado por SOMA Biosciences y utilizado a baja escala en Europa para evaluar el estado del sistema inmunitario de los atletas élite. En este estudio, 4Life puso a prueba la confiabilidad de este instrumento para posible uso futuro por parte de los distribuidores de 4Life.

Métodos experimentales

Para este estudio reclutamos ocho adultos saludables y les proporcionamos instrucciones sobre cómo recolectar la muestra de saliva. Este protocolo incluyó un cuestionario en el que se evalúa la última vez que el participante comió, bebió líquidos o se cepilló los dientes. Los participantes también recibieron instrucciones para mantener el recolector de fluido oral sobre la lengua sin moverlo o succionarlo hasta que el

minutes. Reading of IgA level was performed by using an IPRO Cube Reader. Samples were analyzed to determine 1) variability of salivary IgA level, 2) whether the results were repeatable, 3) the impact of an empty or full stomach on salivary IgA levels, and 4) the correlation of salivary IgA levels with this instrument and the laboratory test by Salimetrics®. Results The intra-day individual variability was measured by collecting saliva samples three times every five minutes. Intra-Day individual variability of IgA levels ranged from 3% to 33% relative standard deviation (RSD) depending on the individual. Inter-day variability samples were collected at the same time in the mornings and afternoons across three consecutive days. Variability for the morning levels ranged from 4% to 94% RSD and for afternoon levels ranged from 3% to 61% RSD. Reproducibility of the cube reader's results was high with RSD of only 0.6%. Variability of the LFD's results was higher but still considered small with RSD of 11%. Incorrect use of the oral fluid collector by sucking on it added high variability with RSD up to 156%. Different LFD incubation time of 15 minutes versus 10 minutes added variability up to 6.4%. Immediate reading of fresh samples versus reading of samples refrigerated for 15 hours also provided different results up to 41% differences in IgA levels. IgA levels measured with the new instrument and with Salimetrics® test had a high correlation of $R^2=0.883$ (total of 32 samples).	recolector se torne azul. El recolector de fluido oral se colocó inmediatamente en una botella con solución reguladora. Cada botella con solución reguladora fue invertida por dos minutos. Dos gotas de cada muestra fueron añadidas al dispositivo de flujo lateral (LFD) e incubadas durante diez minutos. La medición del nivel de IgA se realizó con el uso del lector IPRO Cube reader. Las muestras se analizaron para determinar 1) la variabilidad del nivel de IgA en la saliva, 2) la repetitividad de los resultados, 3) El impacto en el nivel de IgA salival al tener el estómago vacío o lleno y 4) la correlación entre el nivel de IgA salival con este instrumento y el análisis de laboratorio de Salimetrics®. Resultados La variabilidad individual en el mismo día se midió mediante la recolección de muestras de saliva tres veces cada cinco minutos. La variabilidad individual del nivel de IgA, en un mismo día, osciló entre el 3% y el 33% de desviación estándar relativa (RSD) dependiendo del individuo. Las muestras de variabilidad en el mismo día se recolectaron a la misma hora en la mañana y en la tarde durante tres días consecutivos. La variabilidad de los niveles matutinos osciló entre el 4% y el 94% de RSD y, para los niveles de la tarde osciló entre el 3% y el 61% de RSD. La reproducibilidad de los resultados del lector fue alta, con una RSD de solo 0.6%. La variabilidad de los resultados del LFD fue más alta pero todavía considerada pequeña con una RSD de 11%. El uso incorrecto del recolector de fluido oral al ser succionado añadió una variabilidad alta con una RSD de hasta 156%. La diferencia en el tiempo de incubación en el LFD de 15 minutos en comparación con 10 minutos, añadió una variabilidad de hasta 6.4%. La lectura inmediata de muestras frescas, en comparación con la lectura de muestras refrigeradas durante 15
---	---

	horas también produjeron resultados diferentes hasta con un 41% de diferencia en el nivel de IgA . Los niveles de IgA obtenidos con el nuevo instrumento y los obtenidos con el análisis de Salimetrics® tuvieron una correlación alta de $R^2=0.883$ (32 muestras en total).
Figure 1. Variability of the cube reader. Multiple readings of the same lateral flow device (LFD) produced an average relative standard deviation of 0.6%. µg/mL SIgA Reading 1 Reading 2 Reading 3 Subject 1 - 8	Gráfico 1. Variabilidad del lector. Múltiples lecturas del mismo dispositivo de flujo lateral (LFD) produjeron una desviación estándar relativa promedio de 0.6%. µg/mL SIgA 1ª lectura 2ª lectura 3ª lectura Participante 1 -8

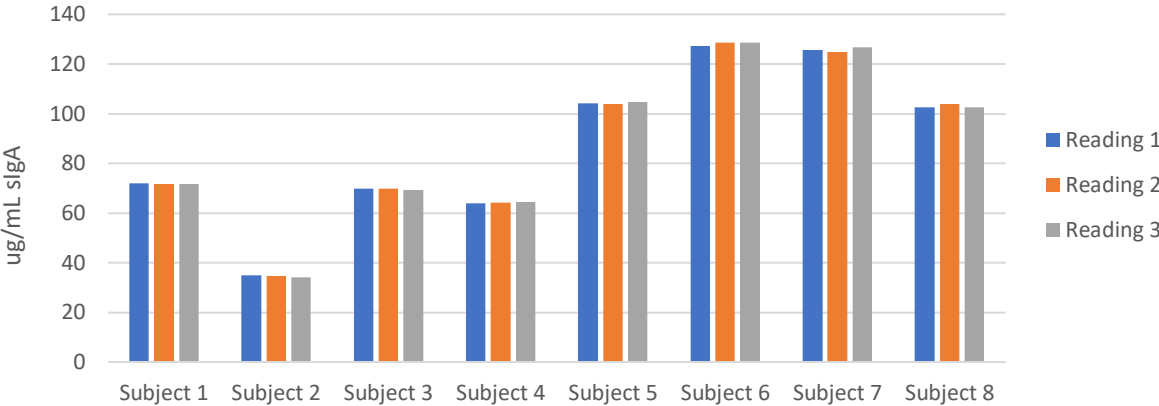


Figure 2. Variability of the lateral flow device (LFD). Single reading of the three LFD that contained same sample produced an average relative standard deviation of 11%. Laminar Flow Device Variability µg/mL SIgA Reading 1 Reading 2 Reading 3 Subject 1 - 5	Gráfico 2. Variabilidad del flujo del dispositivo lateral (LFD). Una sola lectura de los tres LFD que contenían la misma muestra produjo una desviación estándar relativa promedio del 11%. Variabilidad del dispositivo de flujo laminar µg/mL SIgA 1ª lectura 2ª lectura 3ª lectura Participante 1 - 5
--	---

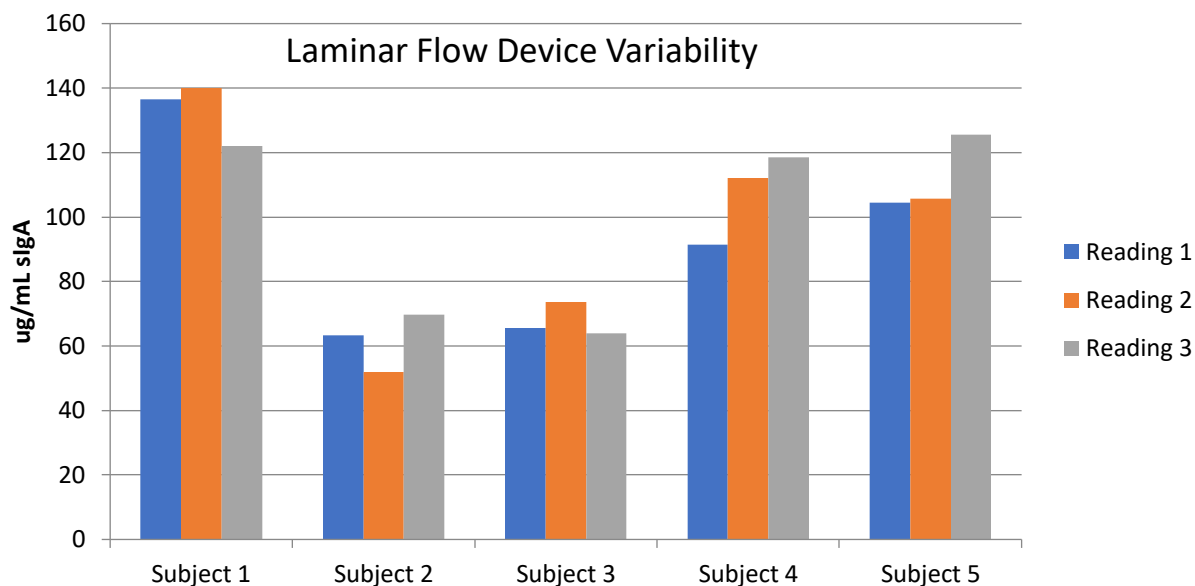
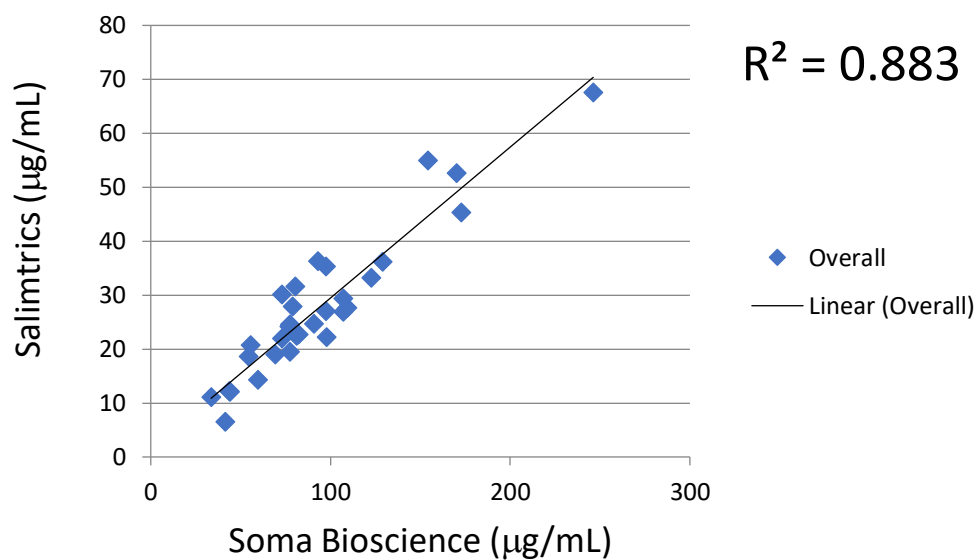


Figure 3. Correlation of salivary IgA levels with new instrument and Salimetrics® test.

Salimetrics (µg/mL)
Soma Bioscience (µg/mL SIgA)
Overall
Linear (Overall)

Variabilidad del dispositivo de flujo laminar
Gráfico 3. Correlación del nivel de IgA salival entre el nuevo instrumento y el análisis de Salimetrics®.

Salimetrics (µg/mL)
Soma Bioscience (µg/mL SIgA)
General
Linear (General)



Conclusion Instrument showed high reproducibility when protocols were followed correctly. Largest sources of variability occurred at the participant level including incorrect sample collection and intra- and inter-day variability. Some individuals presented greater differences in their salivary IgA levels throughout the day and across days than others. Nevertheless, the instrument produced results that were similar to a well-established method.	Conclusión El instrumento demostró una alta reproducibilidad cuando se siguen los protocolos correctamente. El mayor índice de variabilidad se produjo con los participantes, incluyendo la recolección incorrecta de muestras y la variabilidad en un día y de un día a otro. Algunos individuos presentaron mayor diferencia que otros en su nivel de IgA salival a lo largo del día y entre días. Sin embargo, el instrumento produjo resultados similares a los obtenidos con un método bien establecido.
---	--