

BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents		
B7201	200 / 600	R1	6 x	20 ml
		R2	6 x	8 ml
B7203	300 / 600*	R1	6 x	20 ml
		R2	6 x	8 ml

*only for instruments with a reagent tray for 20 / 70ml bottles

Intended use:

Immunturbidimetric assay for the in vitro quantitative determination of IgA in human serum and plasma.

Summary:

IgA accounts for 13% of the plasma immunoglobulins and serves to protect the skin and mucosa against microorganisms. It is capable of binding toxins, and develops in combination with lysozyme antibacterial and antiviral activity. IgA is the predominant immunoglobulin in bodily secretions such as colostum, saliva and sweat. Secretory IgA provides defense against local infections and is important in binding food antigens in the gut. In serum, IgA exists in monomeric, dimeric and trimetric forms, where as in bodily secretions it exists exclusively in dimetric form with an additional chain (secretory component).

Increased polyclonal IgA levels may occur in chronic liver diseases, chronic infections, autoimmune disorders (rheumatoid arthritis systemic lupus erythematosus), sarcoidosis and Wiscott-Aldrich syndrome. Monoclonal IgA increases in IgA myeloma. Decreased synthesis of IgA is observed in congenital and acquired immunodeficiency diseases such as Bruton type agammaglobulinemia. Reduced levels of IgA can be caused by protein-losing gastroenteropathies and loss through skin from burns.

Use of specific antibodies for quantitation of serum proteins has become a valuable diagnostic tool. Light-scattering properties of antigen/antibody aggregates were first observed by Pope and Hearnly in 1938, and later confirmed by Gitlin and Edelhoch. Ritchie employed turbidimetric measurements to quantitate specific proteins. Quantitation of immunoglobulins can also be done using nephelometric techniques. Polymeric enhancement with polyethylene glycol (PEG) to improve sensitivity and increase the rate of antigen/antibody complex formation has been described by Lizana and Hellsing. This IgA assay is based on the principle of immunological agglutination.

Test principle:

Immunturbidimetric assay
Anti-IgA antibodies react with antigen in the sample to form an antigen/antibody complex. Following agglutination, this is measured turbidimetrically. Addition of PEG allows the reaction to progress rapidly to the end point, increases sensitivity and reduces the risk of samples containing excess antigen producing false negative results.

Reagent concentration:

R1:
TRIS* buffer pH 7.8 100 mmol/l
NaCl 150 mmol/l
Polyethylene glycol 4.5 %
Preservative

R2:
Anti-human IgA antibody (goat): dependent on titer
TRIS* buffer pH 7.8 80 mmol/l
NaCl 150 mmol/l
Preservative
*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethane

Preparation and stability:

R1: Ready for use.

R2: Ready for use.

Unopened kit components: Up to the expiration date at +2°C to +8°C

Onboard stability at +2°C to +8°C: R1: 90 days
R2: 90 days

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes
Na-heparin-, Li-heparin- or EDTA-plasma
Stability: 7 days at +20°C to +25°C
3 months at +4°C to +8°C
6 months at - 20°C

Centrifuge samples containing precipitate before performing the assay.

Notes:

For in vitro diagnostic use.
The material safety data sheet contains further safety-related information. It is available for download from our homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com>.
Exercise the normal precautions required for handling all laboratory reagents.

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.
Icterus: No significant interference up to an index I of 90 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin: 90 mg/dl)
Hemolysis: No significant interference up to an index H of 1200 (approximate hemoglobin concentration: 1200 mg/dl).
Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an index L of 700 (approximate triglycerides concentration: 1400 mg/dl). There is poor correlation between turbidity and triglycerides concentration.
There is no cross-reaction between IgA, IgG and IgM under the assay conditions.
Sera with ill-defined characteristics should be subject to protein-electrophoresis to identify a possible antigen excess (e.g. gammopathy)
Rheumatoid factors < 100 IU/mL do not interfere.
A high-dose hook effect may occur at concentrations above 5000 mg/dl (50 g/l).
The effect of drugs or their metabolic products on the test is not known in all cases.
In case of doubt it is recommended to repeat the test after the medication has been discontinued. However, the medication may only be discontinued according to instructions of the attending physician.

Testing procedure:

Materials provided
• Working solutions as described above
Additional materials required
• Calibrators and controls as indicated below
• 0.9% NaCl

Measuring/reportable range:

50 - 600 mg/dl (0.5 - 6 g/l)
Determine samples having higher concentrations via the rerun function using 0.9% NaCl solution.

Expected values:

IFCC 70 – 400 mg/dl
CRM 470* 0.7 – 4.0 g/l

* Reference values according to CRM 470 Protein Standardization

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference range.
For diagnostic purposes the IgA results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Detection limit: 2 mg/dl (0.02 g/l)
The lower detection limit represents the lowest measurable IgA concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

Reproducibility was determined using controls (n = 20). The following results were obtained:

Run to run			
Sample	Mean (mg/dl)	SD(mg/dl)	CV %
Sample 1	218.48	4.627	2.1
Sample 2	242.19	4.874	2.0
Sample 3	439.48	11.349	2.6

Within run			
Sample	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV %
Sample 1	115.00	1.346	1.2
Sample 2	228.37	3.395	1.5
Sample 3	342.94	13.581	4.0

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Turbitex IgA (y) with a commercial obtainable assay (x) gave with 20 samples the following result (mg/dl).

$$y = 0.8649x + 36.281; \quad r = 0.9944$$

Quality control:

Protein Control Level 1 3 x 1 ml #7661
Protein Control Level 2 3 x 1 ml #7662

The control intervals and limits must be adapted to the individual laboratory and country-specific requirements. Values obtained should fall within established limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the limits.

Calibration:

Standardization: The IgA method was calibrated against the CRM 470 standard.

Calibration Type: Logit-Log
S1: 0.9% NaCl
S2-S6: Bio Cal® P Calibration Set 5 x 1 ml #1475

Calibration frequency

Full recalibration is recommended

- after lot change
- as required following quality control procedures

Text passages with grey background were changed in the latest revision of this package insert.

Literature:

1. Consensus values of the Deutsche Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, the Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie and the Verband der Diagnostica-Industrie e.V. (VDGH). Clin Lab 1995;41:743-748
2. Deutsch E, Geyer G, Wenger R, Laboratoriumsmedizin. Normalbereich der Ergebnisse und Interpretation abnormer Befunde, 3rd ed. Basel/Munich: Karger 1992.
3. Gitlin D, Edelhoch H. J Immunol 11951;66:76-78
4. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
5. Heidelberger M, Kendall FE. J Exp Med 1935;62:697
6. Henry JB. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, II. Philadelphia: WB Saunders Co 1979
7. Kaplan La, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation. St Louis: CV Mosby Co 1984
8. Killingsworth LM, Savory J. Clin Chem 1972;18:335
9. Lizana J Hellsing K Clin Chem 1974;20:1181
10. Ritchie RF. J Lab Clin Med 1967;70:512
11. Ritzmann SE, Daniels JC. Serum Protein Abnormalities-Diagnostic and Clinical Aspects. Boston: Little, Brown & Co 1975.
12. Technical documentation, Analyticon
13. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2nd Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
14. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 2nd Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1990:326-329
15. Wallach J, Interpretation of Diagnostic Tests, 3rd ed. Boston: Little, Brown & CO, 1978



BioLyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	BioLyzer	Inhalt
B7201	200 / 600	R1 6 x 20 ml
		R2 6 x 8 ml
B7203	300 / 600*	R1 6 x 20 ml
		R2 6 x 8 ml

*nur für Instrumente mit Reagenzteller für 20 / 70ml Flaschen

Anwendungszweck:

Immunologischer Trübungstest zur quantitativen in vitro Bestimmung von IgA in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

Der Anteil von IgA an den Plasmainmoglobulinen beträgt 13%. IgA schützt durch seine Fähigkeit Toxine zu binden Haut und Schleimhäute gegen Mikroorganismen und entwickelt in Kombination mit Lysozym antibakterielle und antivirale Eigenschaften. IgA ist das Immunglobulin der Körpersekrete wie Speichel, Schweiß und Stuhl. Sekretorisches IgA dient der Abwehr von lokalen Infektionen und spielt eine wichtige Rolle in der Bindung von Antigenen aus Nahrungsmitteln im Darm. Im Serum findet man IgA als Mono-, Di- oder Trimer, während es in den Körpersekreten ausschließlich als Dimer vorliegt, das noch eine zusätzliche Kette (Sekretorische Komponente) trägt.

Erhöhte polyklonale IgA-Konzentrationen können bei chronischen Lebererkrankungen, chronischen Infektionen, Autoimmunerkrankungen (Rheumatoider Arthritis, Systemischer Lupus Erythematodes), Sarkoidose und bei dem Wiskott-Aldrich-Syndrom beobachtet werden. Monoklonales IgA ist bei IgA-Myelomen erhöht. Eine verminderte IgA-Synthese tritt bei kongenitalen und erworbenen Immundefizienzsyndromen auf, wie z.B. bei der Agammaglobulinämie (Morbus Bruton). Erniedrigte IgA Konzentrationen findet man bei Proteinverlust-Enteropathien und Verbrennungen. Der Einsatz von spezifischen Antikörpern zur Bestimmung der Serumproteine hat sich zu einem wertvollen diagnostischen Hilfsmittel entwickelt. Die lichtstreuenden Eigenschaften der Antigen-Antikörper-Komplexe wurden zuerst von Pope und Hearly 1938 beobachtet und von Gitlin und Edelhoch bestätigt. Ritchie verwendete für quantitative Proteinmessungen die turbidimetrische Bestimmung. Mit der nephelometrischen Methode lassen sich ebenfalls die Immunglobuline quantitativ bestimmen. Die Zugabe von Polyethylenglykol (PEG), wie von Lizana und Helsing beschrieben, verstärkt die Präzipitation des Antigen-Antikörper-Komplexes und erhöht die Sensitivität des Tests. Der vorliegende Test beruht auf dem Prinzip des immunologischen Agglutinationstests.

Testprinzip:

Immunologischer Trübungstest

Anti-IgA Antikörper reagieren mit dem Antigen aus der Probe unter Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes, der nach Agglutination turbidimetrisch gemessen wird. Der Zusatz von PEG ermöglicht einen schnellen Endpunkt, erhöht die Empfindlichkeit und vermindert das Risiko, bei Proben mit Antigenüberschuss falsch negative Werte zu messen.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
TRIS Puffer pH 7,8	100 mmol/l
Natriumchlorid	150 mmol/l
Polyethylenglykol	4,5 %
Konservierungsmittel	

R2:	
Anti-Human-IgA-Antikörper (Ziege):	abhängig vom Titer
TRIS Puffer* pH 7,8	80 mmol/l
Natriumchlorid	150 mmol/l
Konservierungsmittel	

*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethan-hydrochlorid

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.
R2: Inhalt ist gebrauchsfertig.

Bei +2°C bis +8°C sind die Reagenzien bis zum aufgedruckten Verfallsdatum haltbar.

Onboard Stabilität bei +2°C bis +8°C:	R1	90 Tage
	R2	90 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen
Li-Heparinat-, Na-Heparinat- oder EDTA-Plasma
Haltbarkeit: 7 Tage bei +20°C bis +25°C
3 Monate bei +4°C bis +8°C
6 Monate bei - 20°C

Proben, die Präzipitate enthalten, müssen vor dem Test zentrifugiert werden.

Hinweis:

In vitro Diagnostikum.

Weitere sicherheitsrelevante Informationen sind im Sicherheitsdatenblatt enthalten. Dieses steht auf unserer Homepage <http://www.analyticon-diagnostics.com> zum Download bereit.

Die beim Umgang mit Laborreagenzien üblichen Vorsichtsmaßnahmen beachten.

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung ±10% vom Ausgangswert.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I 90 (ca. 90 mg/dl konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 1200 (ca. 1200 mg/dl Hämoglobin).

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 700 (ca. 1400 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen Trübung und Triglyceridkonzentration.

IgA gibt unter Testbedingungen keine Kreuzreaktionen mit IgG und IgM.

Bei Seren mit unklarer klinischer Charakterisierung sollte eine Eiweiß-Elektrophorese vorgeschaltet werden, um einen eventuell vorhandenen Antigenüberschuß (z.B. Gammopathie) zu erkennen.

Keine wesentlichen Beeinflussungen bis zu einem Rheumafaktor von 100 IU/ml.

Bei IgA-Konzentrationen über 5000 mg/dl bzw. 50 g/l kann der High-Dose-Hook-Effekt auftreten.

Die Auswirkung von Medikamenten oder deren Metaboliten auf den Test ist nicht in allen Fällen bekannt. Im Zweifelsfall wird deshalb empfohlen, den Test nach Absetzen der Medikation zu wiederholen. Ein Absetzen der Medikation darf allerdings nur nach Anweisung des behandelnden Arztes erfolgen.

Testverfahren:

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben

zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterialien wie nachfolgend beschrieben

• NaCl-Lösung (0,9%)

Messbereich:

50 - 600 mg/dl (0,5 - 6 g/l)

Bei höheren Konzentrationen werden die Proben über die Rerun-Funktion mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) verdünnt.

Referenzbereich:

IFCC	70 - 400	mg/dl
CRM 470*	0,7 - 4,0	g/l

* Referenzwerte gem. CRM 470 Protein-Standardisierung

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die

IgA- Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

Nachweisgrenze: 2 mg/dl bzw. 0,02 g/l

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren IgA- Konzentration, die von Null unterschieden werden kann.

Impräzision:

Die Reproduzierbarkeit wurde mit Kontrollproben (n = 20) bestimmt und ergab folgende Ergebnisse:

Pröbe	Tag / Tag		
	MW (mg/dl)	SD (mg/dl)	VK %
Probe 1	218,48	4,627	2,1
Probe 2	242,19	4,874	2,0
Probe 3	439,48	11,349	2,6

Probe	In der Serie		
	MW (mg/dl)	SD (mg/dl)	VK %
Probe 4	115,00	1,346	1,2
Probe 5	228,37	3,395	1,5
Probe 6	342,94	13,581	4,0

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Turbitex IgA (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden folgende Ergebnisse erhalten (mg/dl):

$$y = 0,8649x + 36,281; \quad r = 0,9944$$

Qualitätskontrolle:

Protein Control Level 1	3 x 1 ml	#7661
Protein Control Level 2	3 x 1 ml	#7662

Die Kontrollintervalle und Kontrollgrenzen sind den individuellen Anforderungen jedes Labors und den länderspezifischen Richtlinien anzupassen. Die Ergebnisse müssen innerhalb der festgesetzten Bereiche liegen. Jedes Labor sollte Korrekturmaßnahmen für den Fall beschreiben, dass Werte außerhalb des Bereichs liegen.

Kalibration

Standardisierung: Die IgA-Methode wurde an der Referenzpräparation CRM 470 abgeglichen.

Kalibrations Typ: Logit-Log

S1: 0.9% NaCl

S2-S6: Bio Cal® P Calibration Set 5 x 1 ml #1475

Kalibrationshäufigkeit:

Eine Vollkalibration wird empfohlen:

- Bei Chargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Grau hinterlegte Textpassagen wurden in der letzten Überarbeitung dieser Gebrauchsanweisung geändert.

Literatur:

1. Deutsch E, Geyer G, Wenger R, Laboratoriumsmedizin. Normalbereich der Ergebnisse und Interpretation abnormer Befunde, 3rd ed. Basel/Munich: Karger 1992.
2. Gitlin D, Edelhoch H. J Immunol 11951;66:76-78
3. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
4. Heidelberger M, Kendall FE. J Exp Med 1935;62:697
5. Henry JB. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, II. Philadelphia: WB Saunders Co 1979
6. Kaplan La, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation. St Louis: CV Mosby Co 1984
7. Killingsworth LM, Savory J. Clin Chem 1972;18:335
8. Konsensuswerte der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriumsmedizin, der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und des Verbandes der Diagnostica-Industrie e.V. (VDGH). Clin Lab 1995;41:743-748
9. Lizana J Hellsing K Clin Chem 1974;20:1181
10. Ritchie RF. J Lab Clin Med 1967; 70:512
11. Ritzmann SE, Daniels JC. Serum Protein Abnormalities-Diagnostic and Clinical Aspects. Boston: Little, Brown & Co 1975.
12. Technische Dokumentation, Analyticon
13. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
14. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 2. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1990:322-325
15. Wallach J, Interpretation of Diagnostic Tests, 3rd ed. Boston: Little, Brown & CO, 1978