

### Order information:

Catalog No.	Contents			
7781	R1	3 x	20 ml	R2 3 x 7 ml
H7201 Hit I / 917 (ILab* / AU*)	R1	6 x	20 ml	R2 6 x 8 ml

(\* ) Kit contains only reagent barcodes for Hitachi systems.

### System information:

Hitachi 911: ACN 777  
Hitachi 917: ACN 737

For application on the Hitachi 912, please use an open system or contact the Analyticon Customer Support.

### Intended use:

Immunoturbidimetric 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 colostrum, saliva and sweat. Secretory IgA provides defence 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 dimeric 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 quantisation 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 quantify 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:

Immunoturbidimetric assay

- Sample and addition of R1 (buffer)
- Addition of R2 (anti-IgA antibody/buffer) and start of reaction

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 a bilirubin concentration of 70 mg/dl.

Hemolysis: No significant interference up to a hemoglobin concentration of 1100 mg/dl.

Lipemia (Intralipid): Elevated levels of triglycerides may interfere. 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)

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:

Applications for automated systems are available on request.

#### Materials provided

- Working solutions as described above

#### Additional materials required

- Calibrators and controls as indicated below
- 0.9% NaCl

<b>Manual Procedure:</b>		
Wavelength:	600 nm	
Temperature:	+37°C	
Cuvette:	1 cm	
Zero adjustment:	against reagent blank	
Sample/Calibrator	Blank	Sample/Calibrator
R1	750 µl	12 µl 750 µl
Mix. Incubate 5 min. at +37°C and read A <sub>1</sub> . Then add:		
R2	300 µl	300 µl
Mix. Incubate 5 min. and read A <sub>2</sub> .		
<b>Calculation:</b>		
$\Delta A = [(A_2 - A_1) \text{ sample or calibrator}] - [(A_2 - A_1) \text{ blank}]$		
The concentration of IgA in patient sera has to be calculated from $\Delta A$ using mathematic functions such as logit/log or can be read from a calibration curve obtained using 6 levels of standards in the concentration range of 0 to 800 mg/dl IgA. Saline solution (0.9% NaCl) is recommended for determining the zero point.		

### Measuring/reportable range:

50-800 mg/dl (0.50 – 8.00 g/l) maximum reportable range is dependent on the highest indicated standard concentration.

At higher concentrations, dilute the sample with 0.9% NaCl (e.g. 1 + 2). Multiply the result by the appropriate factor (e.g. 3) or determine with rerun function.

### 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: 4 mg/dl (0.04 g/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable IgA concentration that can be distinguished from zero.

### Imprecision:

Reproducibility was determined using controls between day (n = 20).

The following results were obtained:

Sample	Between day		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample 1	141.9	2.41	1.70
Sample 2	278.7	3.96	1.42
Sample 3	412.5	4.57	1.11

Reproducibility within run was determined using controls (n = 20).

The following results were obtained:

Sample	Within run		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample 1	134.0	1.11	0.83
Sample 2	169.5	2.20	1.30
Sample 3	268.2	3.81	1.42



### Method comparison:

A comparison of the Analyticon Turbitex IgA (y) with a commercial obtainable assay (x) gave with 40 samples the following result (mg/dl).

$$y = 1.023 x - 2.45; \quad r = 0.998$$

### 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.

S1:	0.9% NaCl		
S2-S6:	Bio Cal <sup>®</sup> P	3 x 1 ml	#1470
	Bio Cal <sup>®</sup> P Set	5 X 1 ml	#1475

### Calibration frequency

Multicalibration

Full recalibration is recommended

- after lot change
- as required following quality control procedures

### Literature:

1. Bablok W et al. General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Biochem 1988; 26:783-790
2. 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
3. Deutsch E, Geyer G, Wenger R, Laboratoriumsmedizin. Normalbereich der Ergebnisse und Interpretation abnormer Befunde, 3<sup>rd</sup> ed. Basel/Munich: Karger 1992.
4. Gitlin D, Edelhoch H. J Immunol 1951;66:76-78
5. 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
6. Heidelberger M, Kendall FE. J Exp Med 1935;62:697
7. Henry JB. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, II. Philadelphia: WB Saunders Co 1979
8. Kaplan La, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation. St Louis: CV Mosby Co 1984
9. Killingsworth LM, Savory J. Clin Chem 1972;18:335
10. Lizana J Hellsing K Clin Chem 1974;20:1181
11. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21: 709-720
12. Ritchie RF. J Lab Clin Med 1967;70:512
13. Ritzmann SE, Daniels JC. Serum Protein Abnormalities-Diagnostic and Clinical Aspects. Boston: Little, Brown & Co 1975.
14. Technical documentation, Analyticon
15. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2<sup>nd</sup> Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
16. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 2<sup>nd</sup> Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1990:326-329
17. Wallach J, Interpretation of Diagnostic Tests, 3<sup>rd</sup> ed. Boston: Little, Brown & CO, 1978



### Bestellinformation:

Katalog Nr.	Inhalt
7781	R1 3 x 20 ml   R2 3 x 7 ml
H7201 Hit I / 917 (ILab* / AU*)	R1 6 x 20 ml   R2 6 x 8 ml

(\* ) Kit enthält nur Reagenzien-Barcodes für Hitachi Systeme.

### Systeminformation:

Hitachi 911: ACN 777  
Hitachi 917: ACN 737

Für die Benutzung am Hitachi 912 verwenden Sie bitte ein offenes System oder wenden Sie sich an den Analyticon Kundensupport.

### Anwendungszweck:

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

### Zusammenfassung:

Der Anteil von IgA an den Plasmamimmunglobulinen 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

- Probe und Zugabe von R1 (Puffer)
  - Zugabe von R2 (Anti-IgA Antikörper/Puffer) und Start der Reaktion
- 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  
Polyethylenglycol 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  $\pm 10\%$  vom Ausgangswert.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Bilirubin-Konzentration von 70 mg/dl.

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zu einer Hämoglobin-Konzentration von 1100 mg/dl.

Lipämie: Erhöhte Triglycerid-Konzentrationen können die Messwerte beeinflussen. Es besteht keine zufrieden stellende 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.

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:

Applikationen für automatisierte Systeme sind auf Anfrage erhältlich.

#### Gelieferte Materialien

- Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben
- zusätzlich benötigte Materialien
- Kalibrations- und Kontrollmaterialien wie nachfolgend beschrieben
- NaCl-Lösung (0,9%)

#### Manuelle Testdurchführung:

Wellenlänge: 600 nm  
Reaktionstemperatur: +37°C  
Schichtdicke: 1 cm  
Messung: gegen Probenleerwert (PLW)

Probe/ Kalibrator	Probe/ Kalibrator
R1	12 µl 750 µl

Mischen. 5 Min. bei 37°C inkubieren und E<sub>1</sub> messen. Dann zufügen:

R2	300 µl
----	--------

Mischen. 5 Min. inkubieren und E<sub>2</sub> ablesen.

#### Berechnung:

$$\Delta E = E_2 - E_1 \text{ (Probe oder Kalibrator)}$$

Die Konzentration von IgA in Patientenserum sollte aus dem  $\Delta E$  der Probe mit Hilfe eines mathematischen Modells wie logit/log berechnet oder aus einer Kalibrationskurve abgelesen werden, beruhend auf den Messergebnissen von 6 Standards für einen Kalibrationsbereich von 0 bis 800 mg/dl IgA. Für den Nullpunkt wird die Verwendung einer NaCl-Lösung (0,9%) empfohlen.

### Messbereich:

50 - 800 mg/dl bzw. 0,50 - 8,00 g/l\*

\* abhängig von der höchsten angegebenen Standardkonzentration.

Bei höheren Konzentrationen werden die Proben manuell mit Natriumchlorid-Lösung (0,9%) verdünnt (z.B. 1+2). Das Ergebnis ist mit dem entsprechenden Verdünnungsfaktor zu multiplizieren (z.B. Faktor 3), bzw. mit Rerun-Funktion bestimmen.

### 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: 4 mg/dl bzw. 0,04 g/l

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

### Impräzision:

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

Probe	Tag / Tag		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Probe 1	141,9	2,41	1,70
Probe 2	278,7	3,96	1,42
Probe 3	412,5	4,57	1,11

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

Probe	In der Serie		
	MW mg/dl	SD mg/dl	VK %
Probe 4	134,0	1,11	0,83
Probe 5	169,5	2,20	1,30
Probe 6	268,2	3,81	1,42

### Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Turbitex IgA (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 40 Proben folgende Ergebnisse erhalten (mg/dl):

$$y = 1,023 x - 2,45; \quad r = 0,998$$

### 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 für Hitachisysteme:

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

S1:      0.9% NaCl  
S2-S6:      Bio Cal® P      3 x 1 ml      #1470  
            Bio Cal® P 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.

### Literatur:

1. Bablok W et al. General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Biochem 1988; 26:783-790
2. Deutsch E, Geyer G, Wenger R, Laboratoriumsmedizin. Normalbereich der Ergebnisse und Interpretation abnormer Befunde, 3<sup>rd</sup> 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 Variabiled. 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. 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
10. Lizana J Hellsing K Clin Chem 1974;20:1181
11. Passing H, Bablok W. A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two different Analytical Methods. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21: 709-720
12. Ritchie RF. J Lab Clin Med 1967; 70:512
13. Ritzmann SE, Daniels JC. Serum Protein Abnormalities-Diagnostic and Clinical Aspects. Boston: Little, Brown & Co 1975.
14. Technische Dokumentation, Analyticon
15. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
16. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 2. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1990:322-325
17. Wallach J, Interpretation of Diagnostic Tests, 3<sup>nd</sup> ed.Boston: Little, Brown & CO, 1978