

Turbitex® IgG-2

IMMUNOGLOBULIN G



BioLyzer® Order information:

Catalog No.	BioLyzer	Contents		
B7151	200 / 600	R1	6 x	20 ml
		R2	6 x	8 ml
B7153	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 IgG in human serum and plasma.

Summary:

IgG molecules are monomers composed of two light chains, (kappa or lambda), and two gamma heavy chains. Approximately 80% of serum immunoglobulin is IgG; its main task lies in defence against microorganisms, direct neutralisation of toxins and induction of complement fixation. IgG is the only immunoglobulin that can cross the placental barrier and provide passive immune protection for the fetus and new-born. This protection gradually catabolizes until the infant's own immunological system begins at about six months of age. Near adult levels are reached by 18 months. Polyclonal IgG increases may be present in systemic lupus erythematosus, chronic liver diseases (infectious hepatitis and Laënnec's cirrhosis), infectious diseases, and cystic fibrosis. Monoclonal IgG increases in myeloma. Decreased synthesis of IgG is found in congenital and acquired immunodeficiency diseases and selective IgG subclass deficiencies, such as Bruton type agammaglobulinemia. Decreased IgG concentrations are seen in protein-losing enteropathies, nephrotic syndrome and through the skin from burns. Increased IgG metabolism is found in Wiskott-Aldrich syndrome, myotonic dystrophy and with anti-immunoglobulin antibodies. Use of specific antibodies for quantification of serum proteins has become a valuable diagnostic tool. Light-scattering properties of antigen/antibody aggregates were first observed by Pope and Healey 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 IgG assay is based on the principle of immunological agglutination.

Test principle:

Immunturbidimetric assay
Anti IgG antibodies react with antigen in the sample to form an antigen/antibody complex. Following agglutination, this is measured turbidimetrically.

Reagent concentration:

R1:	
Tris buffer* pH 7.8	200 mmol/l
NaCl	85 mmol/l
Polyethylene glycol	3.5 %
Preservative	<0.1 %

R2:	
Anti-human IgG antibody (goat);	dependent on titer
TRIS buffer* pH 7.8	200 mmol/l
NaCl	400 mmol/l
Preservative	<0.1 %

*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethane

Preparation and stability:

R1: Ready for use.
R2: Ready for use. Protect from light!

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

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

Specimen:

Collect serum using standard sampling tubes.
Na-/Li-heparin or EDTA-plasma

Stability:	at +20°C to +25°C	4 months
	at +4°C to +8°C	8 months
	at -20°C	8 months

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.

Testing procedure:

Materials provided

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

Limitations - interference:

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.
Icterus: No significant interference up to an index I of 85 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: 85 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 3000 (approximate triglycerides concentration: 6000 mg/dl)
There is poor correlation between the index L (corresponds to turbidity) and triglycerides concentration.
Rheumatoid factors < 2100 IU/ml do not interfere.
As with other turbidimetric or nephelometric procedures, this test may not provide accurate results in patients with monoclonal gammopathy, due to individual sample characteristics which can be assessed by electrophoresis.
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.

Measuring/reportable range:

300 - 6500 mg/dl
At higher concentrations, dilute the sample with 0.9% NaCl using the rerun function.

Expected values:

Reference values according to CRM 470 Protein Standardization
Serum: Adults 700-1600 mg/dl

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 IgG results should always be assayed in conjunction with the patient's medical history, clinical examinations and other findings.

Analytical sensitivity (lower detection limit):

Serum: 26.8 mg/dl (0.27 g/l)
The lower detection limit represents the lowest measurable IgG concentration that can be distinguished from zero.

Imprecision:

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

Sample	Within run		
	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV %
Sample 1	609.08	37.32	6.1
Sample 2	1346.67	54.31	4.0
Sample 3	1904.71	90.69	4.8

Sample	Run to run		
	Mean (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV %
Sample 1	972.44	21.68	2.2
Sample 2	1116.75	19.91	1.8
Sample 3	1036.45	23.97	2.3

Method comparison:

A comparison of the Analyticon Turbitex IgG-2 assay (x) with a commercially available assay (y) with 20 human sera samples gave the following correlation (g/L):
 $y = 0.7594x + 270.93$; $r = 0.9806$

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:

Standardisation: The IgG method has been standardized against the reference preparation CRM 470.
Calibration Type: Logit-Log
S1-S5: BioCa® P Calibration Set 5 x 1 ml #1475

Turbitex® IgG-2

IMMUNOGLOBULIN G



Preparation of calibrator for multi-point calibration:

Prepare a fresh 1:16 dilution of each level of the Bio Cal® P Calibration Set with 0.9 % NaCl solution:

S1: 1:16	e.g. 15 µl Bio Cal® P R1 + 225 µl 0.9% NaCl
S2: 1:16	e.g. 15 µl Bio Cal® P R2 + 225 µl 0.9% NaCl
S3: 1:16	e.g. 15 µl Bio Cal® P R3 + 225 µl 0.9% NaCl
S4: 1:16	e.g. 15 µl Bio Cal® P R4 + 225 µl 0.9% NaCl
S5: 1:16	e.g. 15 µl Bio Cal® P R5 + 225 µl 0.9% NaCl

Calculate calibration values from the package insert of the calibrator by dividing the given values of the individual levels by 16.

Calibration frequency:

Full recalibration is recommended:

- after lot change
- as required following quality control procedures

Disposal:

Please note the legal regulations.

Literature:

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 Preatalytical 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. Kaplan La, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation, 3. Auflage. Mosby Inc, 1996.
6. Killingsworth LM, Savory J. Clin Chem 1972;18:335
7. 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
8. Lizana J Hellsing K Clin Chem 1974;20:1181
9. Ritchie RF. J Lab Clin Med 1967;70:512
10. Ritzmann SE, Daniels JC. Serum Protein Abnormalities-Diagnostic and Clinical Aspects. Boston: Little, Brown & Co 1975.
11. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
12. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1995:3586-360
13. Wallach J, Interpretation of Diagnostic Tests, 3rd ed. Boston: Little, Brown & CO, 1978
14. Reiber H. Flow rate of Cerebrospinal Fluid (CSF) - a Concept, Common to Normal Blood-CSF Barrier Function and to Dysfunction in Neurological Diseases. J Neurol Sci 1994;122:189-203.
15. Reiber H. Clinical Relevance of Neuroimmunological Reaction Patterns, in Cerebrospinal Fluid. Lab Med 1995;19:444-462.
16. Reiber H. External Quality Assessment in Clinical Neurochemistry: Survey of Analysis for Cerebrospinal Fluid (CSF) Proteins based on CSF/Serum Quotients. Clin Chem 1995;41:256-263.
17. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
18. Attaelmannan M, Levinson SS. Understanding and Identifying Monoclonal Gammopathy. Clin Chem 2000;46:1230-1238.
19. Lockitch G, Halstead AC, Quigley G, MacCullum C. Age- and sex-specific pediatric reference intervals; study design and methods illustrated by measurement of serum proteins with the Behring LN Nephelometer. Clin Chem 1988;34:1618-1621.
20. Reiber H, Thompson EJ, Grimsley G, Bernardi G et al. Quality Assurance for Cerebrospinal Fluid Protein Analysis: International Consensus by an Internet-based Group Discussion. Clin Chem Lab Med 2003;41:331-337.



BioLyzer® Bestellinformation:

Katalog-Nr.	BioLyzer	Inhalt
B7151	200 / 600	R1 6 x 20 ml
		R2 6 x 8 ml
B7153	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 IgG in Humanserum und -plasma.

Zusammenfassung:

IgG kommt nur als Monomer vor und besteht aus zwei Leichtketten (Kappa oder Lambda) und zwei Schwerketten (Gamma). Der Anteil an den Serumimmunglobulinen beträgt etwa 80%. Die Hauptaufgabe von IgG liegt in der Abwehr von Mikroorganismen, der direkten Neutralisation von Toxinen und der Einleitung der Komplementbindung. IgG passiert als einziges Immunglobulin die Plazentaschranke und bewirkt einen passiven Schutz des Fötus und Neugeborenen. Dieser Schutz baut sich langsam ab, bis nach etwa 6 Monaten das Immunsystem des Kindes in Funktion tritt. Ein IgG-Konzentrationslevel eines Erwachsenen wird nach ca. 18 Monaten erreicht. Erhöhte polyklonale IgG-Spiegel werden bei chronischen Lebererkrankungen (infektiöse Hepatitis und Laennec's Zirrhose), systemischem Lupus erythematodes, Infektionskrankheiten und zystischer Fibrose beobachtet. Höhere Konzentrationen an monoklonalem IgG treten bei IgG-Myelomen auf. Eine verminderte IgG-Synthese tritt bei kongenitalen und erworbenen Immundefizienzsyndromen und selektivem IgG-Subklassenmangel, wie z.B. bei der Agammaglobulinämie (Morbus Bruton), auf. Erniedrigte IgG-Konzentrationen findet man bei Proteinverlust-Enteropathien, nephrotischem Syndrom und Verbrennungen. Ein erhöhter IgG-Metabolismus wurde bei dem Wiskott-Aldrich-Syndrom, der myotonischen Dystrophie und bei Anti-Immunglobulin-Antikörpern festgestellt.

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 Healey 1938 beobachtet und später 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 Polyethylenglycol (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 der immunologischen Agglutination.

Testprinzip:

Immunologischer Trübungstest

Anti-IgG Antikörper reagieren mit dem Antigen aus der Probe unter Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes, der nach Agglutination turbidimetrisch gemessen wird.

Konzentration der gebrauchsfertigen Lösung:

R1:	
Tris Puffer pH 7,8	200 mmol/l
Natriumchlorid	85 mmol/l
Polyethylenglycol	3,5 %
Konservierungsmittel/ Detergenzien	<0,1%
R2:	
Anti-Human-IgG-Antikörper (Ziege);	Abhängig vom Titer
TRIS Puffer* pH 7,8	200 mmol/l
Natriumchlorid	400 mmol/l
Konservierungsmittel	<0,1%

*TRIS= Tris (hydroxymethyl)-aminomethan-hydrochlorid

Herstellung und Haltbarkeit:

R1: Inhalt ist gebrauchsfertig.

R2: Inhalt ist gebrauchsfertig. Vor Licht schützen!

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

Onboard Stabilität:	R1	90 Tage
	R2	90 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen

Li-/Na-Heparin- oder EDTA-Plasma

Haltbarkeit:	bei +20°C - +25°C	4 Monate
	bei +4°C - +8°C	8 Monate
	bei - 20°C	8 Monate

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.

Testverfahren:

Gelieferte Materialien

• Gebrauchsfertige Lösungen wie vorher angegeben

zusätzlich benötigte Materialien

• Kalibrations- und Kontrollmaterialien wie nachfolgend beschrieben

• NaCl-Lösung (0,9%)

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Als Bewertung gilt: Wiederfindung $\pm 10\%$ vom Ausgangswert.

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 85 (ca. 85 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 3000 (ca. 6000 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen dem L-Index (entspricht der Trübung) und der Triglyceridkonzentration.

Rheumafaktoren <2100 IU/mL stören nicht.

Bei Einhaltung der Testbedingungen treten zwischen IgG und IgA bzw. IgM keine Kreuzreaktionen auf. Aufgrund eines Antigenüberschusses können in polyklonalen Proben bei 440 g/L (44000 mg/dL, 2935 $\mu\text{mol/L}$) falsch erniedrigte Werte auftreten.

Wie auch andere turbidimetrische oder nephelometrische Verfahren liefert dieser Test keine genauen Ergebnisse bei Patienten mit monoklonaler Gammopathie aufgrund individueller Probeneigenschaften, die jedoch mit Elektrophorese bestimmt werden können.

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.

Messbereich:

300 - 6500 mg/dl

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

Referenzbereich:

Referenzwerte gem. CRM 470 Protein-Standardisierung

Serum: Erwachsene 700-1600 mg/dl

Jedes Labor sollte die Übertragbarkeit der Referenzbereiche für die eigenen Patientengruppen überprüfen und gegebenenfalls eigene Referenzbereiche ermitteln. Für diagnostische Zwecke sind die IgG-Ergebnisse stets im Zusammenhang mit der Anamnese, der klinischen Untersuchung und anderen Untersuchungsergebnissen zu werten.

Sensitivität (analytische Nachweisgrenze):

Serum: 26,8 mg/dl (0,27 g/l)

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren IgG-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	In der Serie		
	MW (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV %
Probe 1	609,08	37,32	6,1
Probe 2	1346,67	54,31	4,0
Probe 3	1904,71	90,69	4,8

Probe	Tag / Tag		
	MW (mg/dl)	SD (mg/dl)	CV %
Probe 1	972,44	21,68	2,2
Probe 2	1116,75	19,91	1,8
Probe 3	1036,45	23,97	2,3

Methodenvergleich:

Bei einem Vergleich von Analyticon Turbitex® IgG (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 20 Serum-Proben folgende Ergebnisse erhalten (g/L):

$$y = 0,7594x + 270,93; \quad r = 0,9806$$

Turbitex® IgG-2

IMMUNOGLOBULIN G



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:

Rückführbarkeit: Diese Methode wurde gegen CRM 470 standardisiert.

Kalibrations Typ: Logit-Log

S1-S5: Bio Cal® P Calibration Set	5 x 1 ml	#1475
-----------------------------------	----------	-------

Vorbereitung des Kalibrators für Mehrpunktkalibration:

Bereiten Sie je eine frische 1:16 Verdünnung der Level des Bio Cal® P Calibration Set mit 0,9 % NaCl Lösung zu:

S1: 1:16	z.B. 15 µl Bio Cal® P R1 + 225 µl 0,9% NaCl
S2: 1:16	z.B. 15 µl Bio Cal® P R2 + 225 µl 0,9% NaCl
S3: 1:16	z.B. 15 µl Bio Cal® P R3 + 225 µl 0,9% NaCl
S4: 1:16	z.B. 15 µl Bio Cal® P R4 + 225 µl 0,9% NaCl
S5: 1:16	z.B. 15 µl Bio Cal® P R5 + 225 µl 0,9% NaCl

Die Kalibrationswerte errechnen sich aus den in der Packungsbeilage des Kalibrators angegebenen Werten, der jeweiligen Level, dividiert durch 16.

Kalibrationshäufigkeit

Eine Vollkalibration wird empfohlen:

- Bei Chargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

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 Preatalytical Variabiled. 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. Kaplan La, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation, 3. Auflage. Mosby Inc, 1996.
6. Killingsworth LM, Savory J. Clin Chem 1972;18:335
7. Konsensuswerte der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriums-medizin, der Deutschen Gesellschaft für Klinische Chemie und des Verbandes der Diagnostica-Industrie e.V. (VDGH). Clin Lab 1995;41:743-748
8. Lizana J Hellsing K Clin Chem 1974;20:1181
9. Ritchie RF. J Lab Clin Med 1967;70:512
10. Ritzmann SE, Daniels JC. Serum Protein Abnormalities-Diagnostic and Clinical Aspects. Boston: Little, Brown & Co 1975.
11. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
12. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1995:3586-360
13. Wallach J, Interpretation of Diagnostic Tests, 3rd ed. Boston: Little, Brown & CO, 1978
14. Reiber H. Flow rate of Cerebrospinal Fluid (CSF) - a Concept, Common to Normal Blood-CSF Barrier Function and to Dysfunction in Neurological Diseases. J Neurol Sci 1994;122:189-203.
15. Reiber H. Clinical Relevance of Neuroimmunological Reaction Patterns, in Cerebrospinal Fluid. Lab Med 1995;19:444-462.
16. Reiber H. External Quality Assessment in Clinical Neurochemistry: Survey of Analysis for Cerebrospinal Fluid (CSF) Proteins based on CSF/Serum Quotients. Clin Chem 1995;41:256-263.
17. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
18. Attalermann M, Levinson SS. Understanding and Identifying Monoclonal Gammopathy. Clin Chem 2000;46:1230-1238.
19. Lockitch G, Halstead AC, Quigley G, MacCullum C. Age- and sex-specific pediatric reference intervals; study design and methods illustrated by measurement of serum proteins with the Behring LN Nephelometer. Clin Chem 1988;34:1618-1621.
20. Reiber H, Thompson EJ, Grimsley G, Bernardi G et al. Quality Assurance for Cerebrospinal Fluid Protein Analysis: International Consensus by an Internet-based Group Discussion. Clin Chem Lab Med 2003;41:331-337.

