

Turbitex® IgG-2

IMMUNOGLOBULIN G



Order information:

Catalog No.	Contents
7881	R1 3 x 20 ml R2 3 x 7 ml
H7151 Hit 1 / 917 (ILab* / AU*)	R1 6 x 20 ml R2 6 x 8 ml

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

System information:

Hitachi 911/917: ACN 674 serum/plasma (Standard application)
ACN 673 cerebrospinal fluid (Sensitive appl.)

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

Please note: For measurement of CSF on Hitachi 911 and 912 analyzers please replace the reagent bottle labels by the special labels provided in the reagent kit.

Intended use:

Immunoturbidimetric assay for the in vitro quantitative determination of IgG in human serum and plasma and cerebrospinal fluid (CSF).

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 foetus and newborn. This protection gradually catabolises 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.

The determination of IgG in cerebrospinal fluid (CSF) is used for evaluation of infections involving the central nervous system (CNS), neoplasms or primary neurologic diseases (in particular, multiple sclerosis). Increased CSF IgG concentrations may occur because of either increased permeability of the blood-brain barrier or local/intrathecal production of IgG, or both. Malfunction of the blood-brain barrier can be reliably quantified by means of the albumin CSF/serum ratio. An elevated albumin ratio is an indication of a disorder of the blood-brain barrier. If IgG and albumin are measured in CSF and serum simultaneously, differentiation between IgG originating from blood and IgG originating from intrathecal production is possible.

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 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:

Immunoturbidimetric assay

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

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.

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 +15°C - +25°C 4 months
at +2°C - +8°C 8 months
at -20°C 8 months

For analysis on the Roche/Hitachi 902, manually dilute each specimen 1+15 (i.e. 1:16) with 0.9% NaCl.

CSF samples should be as fresh as possible and used undiluted.

Stability: at +15°C - +25°C 1 day
at +2°C - +8°C 7 days
at -20°C not recommended

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:

The IgG concentration in serum is much higher than in CSF samples. To achieve high sensitivity the CSF application (IGGC2) is run with 30 µL of undiluted sample. Therefore this application is prone to sample carry-over of IgG. To avoid sample carry-over it is recommended to wash sample probe with 100 µL 1 M NaOH/Multi-clean using the special wash/sample probe evasion option in the software or on the wash-rack. If possible, use batch mode.

Criterion: Recovery within ±10% of initial value.

Standard application (IGG-2):

Icterus: No significant interference up to an I index of 60 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: 60 mg/dl or 1026 µmol/l).

Hemolysis: No significant interference up to an H index of 1000 (approximate hemoglobin concentration: 1000 mg/dl or 621 µmol/l).

Lipemia (Intralipid): No significant interference up to an L index of 1500. (approximate triglycerides concentration: 3000 mg/dl)

There is poor correlation between the L index (corresponds to turbidity) and triglycerides concentration.

Rheumatoid factors < 1200 IU/ml do not interfere.

Falsely low results due to antigen excess may occur at 440 g/l (44000 mg/dl) in polyclonal specimens. There is no cross-reaction between IgG and IgA or IgM under the assay conditions.

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.

Sensitive application (IGGC2):

Icterus: No significant interference up to an I index of 60 (approximate conjugated and unconjugated bilirubin concentration: 60 mg/dl or 1026 µmol/l).

Hemolysis: No significant interference up to an H index of 800 (approximate hemoglobin concentration: 800 mg/dl or 497 µmol/l).

Falsely low results due to antigen excess may occur above 1400 mg/L.

There is no cross-reaction between IgG and IgA or IgM under the assay conditions.

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

Manual Testing procedure:		
Wavelength:	340 nm	
Temperature:	37°C	
Cuvette:	1 cm light path	
Zero adjustment:	Aqua dest.	
Serum/Plasma		Liquor
R1	750 µl	750 µl
Sample/Calibrator	21 µl	30 µl
Mix. Incubate for 5 min. at 37°C and read A ₁ . Then add:		
R2	255 µl	60 µl
Aqua dest.	---	90 µl
Mix. Incubate for 5 min. at 37°C and read A ₂ .		
Calculation:		
$\Delta A = [(A_2 - A_1) \text{ Sample or Calibrator}] - [(A_2 - A_1) \text{ Aqua dest.}]$		
The concentration of IgG in patient sera has to be calculated from ΔA 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 500 mg/dl IgG. Saline solution (0.9% NaCl) is recommended for determining the zero point.		

Measuring/reportable range:

Standard application: 300-5000 mg/dl
Sensitve application (CSF): 0.2-20 mg/dl (2.0-200mg/L)

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

Expected values:

Reference values according to CRM 470 Protein Standardization
Serum: Adults 700-1600 mg/dl
CSF: Adults 10-30 mg/l

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: 16 mg/dl (0,16 g/l)
CSF: 0,1 mg/dl (1 mg/l)

The lower detection limit represents the lowest measurable IgG concentration that can be distinguished from zero. It is calculated as three standard deviations of 21 replicates of the lowest standard.

Imprecision:

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

Standard application:

Sample	Within run			Run/Run		
	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %	Mean mg/dl	SD mg/dl	CV %
Sample 1	746.04	7.18	0.96	205	12.5	6.1
Sample 2	582.43	11.03	1.89	1032	14.86	1.44
Sample 3	1241.7	14.24	1.15	2545	43.77	1.72

Sensitive application:

Sample	Within run			Run/Run		
	Mean mg/L	SD mg/L	CV %	Mean mg/L	SD mg/L	CV %
Sample 1	43.73	0.7	1.61	13.21	0.86	6.52
Sample 2	154.51	2.58	1.67	327.7	6.78	2.07
Sample 3	85.31	0.84	0.99	166.6	2.12	1.27

Method comparison:

Standard application:

A comparison of the Analyticon Turbitex IgG-2 assay (x) with a commercially available assay (y) with 103 human sera samples gave the following correlation (g/L):

$$y = 1.075x - 0.977 \quad r = 0.996$$

Sensitive application (IGGC2):

A comparison of the Analyticon Turbitex IgG-2 assay (x) with a commercially available assay (y) with 54 human liquor samples gave the following correlation (mg/L):

$$y = 1.042x - 3.903 \quad r = 0.988$$

Calibration:

Standardisation: The IgG method has been standardised against the reference preparation CRM 470.

Standard application (IgG-2):

Roche/Hitachi 904, 911, 912, 917:

S1: 0.9% NaCl

S2-S6: BioCal P 3 x 1 ml #1470

Multiply the lot-specific calibrator value by the factors below to determine the standard concentrations for the 6-point calibration curve.

S2: 0.10 S4: 0.50 S6: 2.50
S3: 0.25 S5: 1.00

Sensitive application (IgG-2 CSF):

Roche/Hitachi 904, 911, 912, 917:

S1: 0.9% NaCl

S2-S6: C.f.a.s. PUC from Roche

Multiply the lot-specific C.f.a.s. PUC calibrator value by the factors below to determine the standard concentrations for the 6-point calibration curve.

S2: 0.042 S4: 0.166 S6: 1.000
S3: 0.083 S5: 0.333

Calibration frequency

Full recalibration is recommended:

- after lot change
- as required following quality control procedures

Quality control:

Standard application:

Protein Control Level 1 3 x 1 ml #7661

Protein Control Level 2 3 x 1 ml #7662

Sensitive application:

For quality control, use Precinorm PUC and Precipath PUC from Roche or Liquicheck Spinal Fluid Control from Biorad. Other suitable control material can be used in addition.

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.

Literature:

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, 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. Kaplan La. Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation, 3. Auflage. Mosby Inc, 1996.
7. Killingsworth LM, Savory J. Clin Chem 1972;18:335
8. Konsensuswerte der Deutschen Gesellschaft für Laboratoriums-medicin, 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. Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
13. Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1995:3586-360
14. Wallach J, Interpretation of Diagnostic Tests, 3rd ed. Boston: Little, Brown & CO, 1978
15. 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.
16. Reiber H. Clinical Relevance of Neuroimmunological Reaction Patterns, in Cerebrospinal Fluid. Lab Med 1995;19:444-462.
17. 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.
18. Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
19. Attalmanan M, Levinson SS. Understanding and Identifying Monoclonal Gammopathy. Clin Chem 2000;46:1230-1238.
20. 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.
21. 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.

Bestellinformation:

Katalog-Nr.	Inhalt
7881	R1 3 x 20 ml R2 3 x 7 ml
H7151	Hit 1 / 917 (ILab* / AU*) R1 6 x 20 ml R2 6 x 8 ml

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

Systeminformation:

Hitachi 911/917: ACN 674 Serum/Plasma (Standardapplikation)
ACN 673 Liquor (Sensitive Applikation)

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

Hinweis: Zur Messung von Liquor auf Roche/Hitachi 911 und 912 Geräten müssen die Etiketten der Reagenzflaschen mit den der Packung beiliegenden Sonderetiketten überklebt werden!

Anwendungszweck:

Immunologischer Trübungstest zur quantitativen in vitro Bestimmung von IgG in Humanserum, -plasma und Liquor.

Zusammenfassung:

IgG kommt nur als Monomer vor und besteht aus zwei Leichtketten (Kappa oder Lambda) und zwei Schwereketten (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 Komplexbildung. 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 erythematoses, 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.

Die Bestimmung von IgG in Liquor dient zur Auswertung von Infektionen mit Beteiligung des Zentralnervensystems (ZNS), Neoplasmen oder primären neurologischen Erkrankungen (insbesondere multiple Sklerose). Eine erhöhte IgG-Konzentration in Liquor kann entweder aufgrund einer erhöhten Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke oder einer erhöhten lokalen IgG-Produktion oder von beidem auftreten. Eine Beeinträchtigung der Blut-Hirn-Schranke lässt sich unter Verwendung des Liquor/Serum-Albuminindex bewerten. Ein erhöhter Albuminquotient dient als Indikator einer beeinträchtigten Blut-Hirn-Schranke. Die gleichzeitige Bestimmung von IgG und Albumin in Liquor und Serum ermöglicht die Differenzierung zwischen aus Blut stammendem IgG und IgG aus intrathekalen Produktion.

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 Helling 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

- Probe und Zugabe von R1 (Puffer)
- Zugabe von R2 (Anti-IgG Antikörper/Puffer) und Start der Reaktion

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

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.

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: R1 90 Tage
R2 90 Tage

Untersuchungsgut:

Serum, entnommen mit Standard-Probenentnahmeröhrchen

Li-/Na-Heparin- oder EDTA-Plasma

Haltbarkeit: bei +15°C - +25°C 4 Monate
bei +2°C - +8°C 8 Monate
bei -20°C 8 Monate

Zur Analyse jede Probe manuell oder mittels automatischer Vorverdünnung 1+15 (d.h. 1:16) mit 0,9% NaCl verdünnen.

Liquor: Die Proben sollten so frisch wie möglich sein und werden unverdünnt eingesetzt.

Haltbarkeit: bei +15°C - +25°C 1 Tag
bei +2°C - +8°C 7 Tage

Die Aufbewahrung bei -20°C wird nicht empfohlen.

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

Einschränkungen des Verfahrens - Interferenzen:

Die IgG-Konzentration im Serum ist wesentlich höher als in Liquorproben. Um eine hohe Sensitivität zu erreichen, wird die CSF-Applikation mit 30 µL unverdünnter Probe durchgeführt. Daher kann es bei dieser Applikation zu einer Probenverschleppung von IgG kommen. Um eine Probenverschleppung zu vermeiden, wird empfohlen, die Probenadel mit 100 µL 1 M NaOH zu waschen.

Als Bewertung gilt: Wiederfindung ±10% vom Ausgangswert.

Standardapplikation:

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 60 (ca. 60 mg/dL bzw. 1026 µmol/L konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 1000 (ca. 1000 mg/dL bzw. 621 µmol/L Hämoglobin).

Lipämie (Intralipid): Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index L von 1500 (ca. 3000 mg/dl Triglyceride). Es besteht keine zufriedenstellende Übereinstimmung zwischen dem L-Index (entspricht der Trübung) und der Triglyceridkonzentration. Rheumafaktoren <1200 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) 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.

Sensitive Applikation:

Ikterus: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index I von 60 (ca. 60 mg/dL bzw. 1026 µmol/L konjugiertes und unkonjugiertes Bilirubin).

Hämolyse: Keine wesentliche Beeinflussung bis zum Index H von 800 (ca. 800 mg/dL bzw. 497 µmol/L Hämoglobin).

Bei Einhaltung der Testbedingungen treten zwischen IgG und IgA bzw. IgM keine Kreuzreaktionen auf. Falsch erniedrigte Werte aufgrund von Antigenüberschuss können bei über 1400 mg/L auftreten.

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:	340 nm	
Temperatur:	37°C	
Schichtdicke:	1 cm	
Messung:	Aqua dest.	
Serum/Plasma		Liquor
R1	750 µl	750 µl
Probe/Kalibrator	21 µl	30 µl
Mischen. 5 min. bei 37°C inkubieren und E ₁ messen. Dann zufügen:		
R2	255 µl	60 µl
Aqua dest.	---	90 µl
Mischen. 5 min. bei 37°C inkubieren und E ₂ ablesen.		
Berechnung:		
$\Delta E = [(E_2 - E_1) \text{ Probe oder Kalibrator}] - [(E_2 - E_1) \text{ Aqua dest.}]$		
Die Konzentration von IgG in Patientenserum sollte aus dem ΔE 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 5000 mg/dl IgG. Für den Nullpunkt wird die Verwendung einer NaCl-Lösung (0,9%) empfohlen.		

Messbereich:

Standard Applikation: 300-5000 mg/dl
Sensitive Applikation (CSF): 0,2-200 mg/dl (2,0-200mg/L)

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

Referenzbereich:

Referenzwerte gem. CRM 470 Protein-Standardisierung
Serum: Erwachsene 700-1600 mg/dl
CSF: Erwachsene 10-30 mg/l

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: 16 mg/dl (0,16 g/l)
CSF: 0,1 mg/dl (1mg/l)

Die Nachweisgrenze entspricht der niedrigsten messbaren IgG-Konzentration, die von Null unterschieden werden kann. Sie wird aus der dreifachen Standardabweichung von 21 Proben des niedrigsten Standards berechnet.

Impräzision:

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

Probe	In der Serie			Lauf/Lauf		
	MW mg/dl	SD mg/dl	CV %	MW mg/dl	SD mg/dl	CV %
Probe 1	746,04	7,18	0,96	205	12,5	6,1
Probe 2	582,43	11,03	1,89	1032	14,86	1,44
Probe 3	1241,7	14,24	1,15	2545	43,77	1,72

Sensitive Applikation:

Probe	In der Serie			Lauf/Lauf		
	MW mg/L	SD mg/L	CV %	MW mg/L	SD mg/L	CV %
Probe 1	43,73	0,7	1,61	13,21	0,86	6,52
Probe 2	154,51	2,58	1,67	327,7	6,78	2,07
Probe 3	85,31	0,84	0,99	166,6	2,12	1,27

Methodenvergleich:

Standardapplikation:

Bei einem Vergleich von Analyticon Turbitex® IgG (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 100 Serum-Proben folgende Ergebnisse erhalten (g/L):

$$y = 1,075 x - 0,977 \quad r = 0,996$$

Sensitive Applikation:

Bei einem Vergleich von Analyticon Turbitex® IgG (y) mit einem kommerziell erhältlichen Test (x) wurden mit 54 Liquor-Proben folgende Ergebnisse erhalten (mg/L):

$$y = 1,042 x - 3,903 \quad r = 0,988$$

Qualitätskontrolle:

Standardapplikation:

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

Sensitive Applikation (IgG2 CSF):

Precinorm PUC und Precipath PUC von Roche sowie Liquicheck Spinal Fluid Control von Biorad oder anderes geeignetes Kontrollmaterial kann verwendet werden.

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.

Standardapplikation:

Hitachi 904,911,912,917:
S1: 0,9% NaCl
S2-S6: BioCal P 3 x 1 ml #1470

Faktoren für die Berechnung der Standardkonzentrationen der Sechspunkt-Kalibrationskurve aus dem chargenspezifischen Sollwert des BioCal P:

S2: 0,10 S4: 0,50 S6: 2,50
S3: 0,25 S5: 1,00

Sensitive Applikation:

Hitachi 904,911,912,917:

S1: 0,9% NaCl
S2-S6: C.f.a.s. PUC von Roche

Faktoren für die Berechnung der Standardkonzentrationen der Sechspunkt-Kalibrationskurve aus dem chargenspezifischen Sollwert des C.f.a.s. PUC:

S2: 0,042 S4: 0,166 S6: 1,000
S3: 0,083 S5: 0,333

Kalibrationshäufigkeit

Eine Vollkalibration wird empfohlen:

- Bei Chargenwechsel
- Wenn Qualitätskontrollverfahren dies erfordern

Entsorgung:

Bitte beachten Sie die jeweiligen gesetzlichen Vorschriften.

Literatur:

- Bablok W et al. General Regression Procedure for Method Transformation. J Clin Chem Biochem 1988; 26:783-790
- Deutsch E, Geyer G, Wenger R, Laboratoriumsmedizin. Normalbereich der Ergebnisse und Interpretation abnormer Befunde, 3rd ed. Basel/Munich: Karger 1992.
- Gitlin D, Edelhoch H. J Immunol 1951;66:76-78
- Guder WG, Narayanan S, Wissner H, Zawta B. List of Analytes Preanalytical Variables. Brochure in: Samples: From the Patient to the Laboratory. Darmstadt: GIT-Verlag, 1996
- Heidelberger M, Kendall FE. J Exp Med 1935;62:697
- Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, Theory, Analysis and Correlation, 3. Auflage. Mosby Inc, 1996.
- Killingsworth LM, Savory J. Clin Chem 1972;18:335
- 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
- Lizana J, Hellsing K Clin Chem 1974;20:1181
- Ritchie RF. J Lab Clin Med 1967;70:512
- Ritzmann SE, Daniels JC. Serum Protein Abnormalities-Diagnostic and Clinical Aspects. Boston: Little, Brown & Co 1975.
- Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry, 2. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1976:278-280
- Tietz NW. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3. Auflage Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1995:3586-360
- Wallach J, Interpretation of Diagnostic Tests, 3rd ed. Boston: Little, Brown & CO, 1978
- 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.
- Reiber H. Clinical Relevance of Neuroimmunological Reaction Patterns, in Cerebrospinal Fluid. Lab Med 1995;19:444-462.
- 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.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
- Attaelmannan M, Levinson SS. Understanding and Identifying Monoclonal Gammopathy. Clin Chem 2000;46:1230-1238.
- 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.
- Reiber H, Thompson EJ, Grimley 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.