

Quantitative determination of human immunoglobulin A (IgA) IVD

Store 2 - 8°C.

INTENDED USE

The IgA is a quantitative turbidimetric test for the measurement of IgA in human serum or plasma.

PRINCIPLE OF THE METHOD

Anti-human IgA antibodies when mixed with samples containing IgA, form insoluble complexes. These complexes cause an absorbance change, dependent upon the IgA concentration of the patient sample, that can be quantified by comparison from a calibrator of known IgA concentration.

CLINICAL SIGNIFICANCE

IgA represents approximately 10 to 15% of total serum immunoglobulins. Its structure is monomeric, similar to the IgG molecule, but 10 to 15% of IgA in serum is polymeric, particularly IgA₂, which is more resistant to destruction by some pathogenic bacteria. Another more important form of IgA is called secretory IgA. It is found in tears, sweat, saliva, milk and gastrointestinal and bronchial secretions. IgA is generally increased in skin, pulmonary, kidney infections, and hepatic cirrhosis. Increased monoclonal IgA concentrations may be found in multiple myeloma and other disturbances of plasmatic cells.

REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, PEG 8000, pH 8.3 Sodium azide 0.95 g/L.
Antibody (R2)	Goat serum, anti-human IgA, pH 7.5. Sodium azide 0.95 g/L.
Optional	Cod: 1102003 PROT CAL.

CALIBRATION

The assay is calibrated to the Reference Material CRM 470/RPPHS (Institute of Reference of Materials and Measurements, IRMM). It must be used the PROT CAL Calibrator to calibrate the reagent. The reagent (both monoreagent and bireagent) should be recalibrated every month, when the controls are out of specifications, and when changing the reagent lot or the instrument settings.

PREPARATION

Reagents: Ready to use.

Calibration Curve: Prepare the following PROT CAL Calibrator dilutions in NaCl 9 g/L as diluent. Multiply the concentration of the IgA calibrator by the corresponding factor stated in table below to obtain the IgA concentration of each dilution.

Calibrator dilution	1	2	3	4	5	6
Calibrator (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations are prevented during their use. Do not use reagents over the expiration date.

Reagent deterioration: The presence of particles and turbidity.

Do not freeze; frozen Antibody or Diluent could change the functionality of the test.

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic bath at 37°C.
- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 600 nm filter (580 - 620 nm).

SAMPLES

Fresh serum or plasma. EDTA or heparin should be used as anticoagulant. Stable 7 days at 2-8°C or 3 months at -20°C.

The samples with presence of fibrin should be centrifuged.

Do not use highly hemolyzed or lipemic samples.

PROCEDURE

1. Bring the reagents and the photometer (cuvette holder) to 37°C.

2. Assay conditions:

Wavelength : 600

Temperature : 37 °C

Cuvette light path : 1cm

3. Adjust the instrument to zero with distilled water.

4. Pipette into a cuvette:

Reagent R1	800 µL
Sample or Calibrator	10 µL

5. Mix and read the absorbance (A₁) after the sample addition.

6. Immediately, pipette into de cuvette:

Reagent R2	200 µL
------------	--------

7. Mix and read the absorbance (A₂) of calibrators and sample exactly 2 minutes after the R2 addition.

Spinreact has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

CALCULATIONS

Calculate the absorbance difference (A₂-A₁) of each point of the calibration curve and plot the values obtained against the IgA concentration of each calibrator dilution. IgA concentration in the sample is calculated by interpolation of its (A₂-A₁) in the calibration curve.

QUALITY CONTROL

Control sera are recommended to monitor the performance of manual and automated assay procedures. Spinreact PROT CONTROL (Cod.:1102004). Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES⁴

Between 70 - 400 mg/dL. Each laboratory should establish its own reference range.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

- Measurement range: Up to 600 mg/dL, under the described assay conditions. Samples with higher concentrations, should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and re-tested again. The linearity limit and measurement range depends on the sample to reagent / ratio. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
- Limit detection: Values less than 1 mg/dL give non-reproducible results.
- Prozone effect: No prozone effect was detected upon 2000 mg/dL
- Sensitivity: Δ 2.1 mA. mg/dL at 71 mg/dL.
- Precision: The reagent has been tested for 20 days, using three levels of serum in a EP5-based study.

EP5	CV (%)		
	127.7 mg/dl	196.9 mg/dl	416.3 mg/dl
Total	8.2%	5.2%	3.5%
Within Run	1.7%	1.5%	1%
Between Run	2.2%	1.9%	2.4%
Between Day	7.7%	4.6%	2.3%

- Accuracy: Results obtained using this reagent (y) were compared to those obtained using an immunoturbidimetric method from Bayer. 46 samples ranging from 20 to 400 mg/dL of IgA were assayed. The correlation coefficient (r) was 0.97 and the regression equation $y = 1.16x - 12.2$.

The results of the performance characteristics depend on the used analyzer.

INTERFERENCES

Hemoglobin (50 g/L), bilirubin (50 mg/dL) and lipemia (12,5 g/L), do not interfere. Rheumatoid factors may interfere at 900 IU/mL. Other substances may interfere^{6,7}.

NOTES

- Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Skoug Jonh W et al. Clin Chem 1988; 34/2: 309 - 315
- Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
- Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 517-520.
- Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PACKAGING

Ref.: 1103014

Cont.

R1. Diluent: 1 x 40 mL
R2. Antibody: 1 x 10 mL

Determinación cuantitativa de inmunoglobulina A (IgA) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

Es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de IgA en suero o plasma humano.

PRINCIPIO DEL METODO

Los anticuerpos anti-IgA forman compuestos insolubles cuando se combinan con la IgA de la muestra del paciente, ocasionando un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de IgA en la muestra, y que puede ser cuantificada por comparación con un calibrador de IgA de concentración conocida.

SIGNIFICADO CLINICO

La IgA representa aproximadamente entre un 10 y 15% del total de inmunoglobulinas séricas. Su estructura es monomérica, similar a la IgG, pero su forma dimerica representa un total de 10-15% de la IgA, especialmente la IgA₂, la cual es mucho más resistente a la destrucción de algunas bacterias patógenas. Una forma especial de IgA se denomina IgA secretora, que se halla en saliva, lagrimas, sudor, leche y secreciones gástricas y bronquiales.

La IgA se encuentra generalmente elevada en infecciones de la piel, pulmones, riñón y cirrosis hepática. Pueden encontrarse elevaciones de concentración de IgA monoclonal en mielomas múltiples y otras alteraciones de las células plasmáticas.

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticuerpo (R2)	Suero de cabra, anti-IgA humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Cod: 1102003 PROT CAL.

CALIBRACION

El ensayo está estandarizado frente al Material de Referencia CRM 470/RPPHS (Institute of Reference Materials and Measurements, IRMM). Debe utilizarse el Calibrador PROT CAL para la calibración. El reactivo (tanto monoreactivo como birectivo) se debe recalibrar cada mes, cuando los controles están fuera de especificaciones, y cuando el lote de reactivo o la configuración del instrumento cambia.

PREPARACION

Reactivos: Listos Para el uso.

Curva de Calibración: Preparar las siguientes diluciones del Calibrador PROT CAL en ClNa 9 g/L como diluyente. Para obtener las concentraciones de cada dilución de IgA, multiplicar la concentración de IgA del calibrador por el factor correspondiente indicado en la tabla:

Dilución calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
ClNa 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0.1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad. Indicadores de deterioro: Presencia de partículas y turbidez.

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatzable a 37°C para lecturas a 600 nm (580-620 nm).

No congelar; la congelación del Anticuerpo o Diluyente puede afectar la funcionalidad de los mismos.

MUESTRAS

Suero o plasma fresco, recogido con heparina o EDTA como anticoagulantes. Estable 7 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C. Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

PROCEDIMIENTO

1. Calentar los reactivos y el fotómetro (portacubetas) a 37°C.
2. Condiciones del ensayo:
 - Longitud de onda: 600 nm
 - Temperatura: 37°C
 - Paso de luz de la cubeta: 1 cm
3. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
4. Pipetear en una cubeta:

Reactivo R1	800 µL
Muestra o Calibrador	10 µL

5. Mezclar y leer la absorbancia (A₁) después de la adición de la muestra.
6. Inmediatamente después, pipetear en la cubeta:

Reactivo R2	200 µL
-------------	--------

7. Mezclar y leer la absorbancia (A₂) exactamente después de 2 minutos de añadir el reactivo R2.

Spinreact dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CALCULOS

Calcular la diferencia de absorbancias (A₂ - A₁) obtenidas para los distintos calibradores, y construir la curva de calibración de los valores obtenidos frente a las concentraciones de IgA de cada dilución del Calibrador. La concentración de IgA en la muestra se calcula por interpolación de su diferencia (A₂ - A₁) en la curva de calibración.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar sueros control para controlar los ensayos tanto en procedimiento manual como en automático. Spinreact dispone del PROT CONTROL cod: 1102004.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA⁴

Entre 70 - 400 mg/dL. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERISTICAS DEL METODO

1. Rango de medida: hasta 600 mg/dL, en las condiciones descritas del ensayo. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 con ClNa 9 g/L y ensayarse de nuevo. El intervalo de medida depende de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior del intervalo de medida, aunque se reduce la sensibilidad.
2. Límite de detección: valores por debajo de 1 mg/dL dan lugar a resultados poco reproducibles.
3. Sensibilidad: Δ 2.1 mA / mg/dL (71mg/dL).
4. Efecto prozona: No se observa hasta valores de 2000 mg/dL.
5. Precisión: el reactivo ha sido probado durante 20 días con tres niveles diferentes de suero en un estudio basado en las normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	127.7 mg/dl	196.9 mg/dl	416.3 mg/dl
Total	8.2%	5.2%	3.5%
Within Run	1.7%	1.5%	1%
Between Run	2.2%	1.9%	2.4%
Between Day	7.7%	4.6%	2.3%

6. Exactitud: El comportamiento de este método (y) fue comparado con un método inmunoturbidimétrico de Bayer. 46 muestras de concentraciones de IgA entre 20 y 400 mg/dL fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de regresión (r) fue de 0,97 y la ecuación de la recta de regresión y = 1.16 x - 12.2.

Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS⁵⁻⁶

Bilirrubina (50 mg/dL), hemoglobina (50 g/L) y los lípidos (12,5 g/L), no interfieren. Los factores reumatoides pueden interferir a concentraciones superiores a 900 UI/mL. Otras sustancias pueden interferir^{5,6}.

NOTAS

1. El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFIA

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Skoug Jonh W et al. Clin Chem 1988; 34/2: 309 - 315
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 517-520.
5. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

PRESENTACION

Ref.: 1103014 Cont. R1. Diluyente: 1 x 40 mL
R2. Anticuerpo: 1 x 10 mL

Détermination quantitative d'immunoglobuline A (IgA) IVD

Conserver à 2 - 8°C.

USAGE RECOMMANDÉ

Il s'agit d'un essai turbidimétrique pour quantifier l'IgA en sérum ou plasma humain.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Ce réactif est appliqué à une détermination quantitative in vitro de la concentration d'IgA dans le sérum humain.

Il existe deux types d'IgA: type sécrétant et sérotype. Le sérotype IgA peut modérer les phagocytoses ADCC ;

L'augmentation d'IgA est particulièrement fréquente dans la maladie α des chaînes lourdes, l'hypoprotéinémie bénigne, la cirrhose d'origine alcoolique, l'hépatite chronique active, la sclérose en plaques, les rhumatismes, les maladies infectieuses et la vaccination, et la diminution d'IgA est particulièrement fréquente dans la maladie de l'intestin grêle, des reins, la forme de malnutrition Kwashiorkor, agammaglobulinémie iatrogène, agammaglobulinémie primaire et l'hyperlipidémie non- γ -globuline.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La combinaison d'IgA dans l'échantillon avec des anticorps antihumains Iga dans le réactif génère un complexe antigènes-anticorps, et forme une certaine quantité de turbidité, dont l'intensité est directement proportionnelle au contenu d'IgA dans l'échantillon. Le contenu d'IgA dans l'échantillon peut être déduit en mesurant l'absorbance de la turbidité et en comparant avec la courbe standard.

RÉACTIFS

Diluant (R1)	Tampon tris 20 mmol/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azoture de sodium 0,95 g/L.
Anticorps (R2)	Sérum de chèvre, anti-IgA humaine, pH 7,5. Azoture de sodium 0,95 g/L.
En option :	Cod : 1102003 PROT CAL

ÉTALONNAGE

L'essai est étalonné par rapport au matériel de référence CRM 470/RPPHS (Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM). Pour l'étalonnage il faut utiliser le calibreur PROT CAL. Le réactif (aussi bien monoréactif que biréactif) doit être recalibré tous les mois, quand les contrôles sont en dehors des spécifications, et quand le lot de réactif ou la configuration de l'instrument change.

PRÉPARATION

Réactifs : Prêts à l'usage.

Courbe d'étalonnage : Préparer les dilutions suivantes du calibreur PROT CAL en CINA 9 g/L comme diluant. Pour obtenir les concentrations de chaque dilution d'IgA, multiplier la concentration d'IgA du calibreur par le facteur correspondant indiqué dans le tableau :

Dilution calibreur	1	2	3	4	5	6
Calibreur (μ L)	--	10	25	50	75	100
CINA 9 g/L (μ L)	100	90	75	50	25	-
Facteur	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVATION ET STABILITÉ

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date d'expiration quand les flacons sont gardés bien fermés à 2-8°C, et que la contamination est évitée au cours de leur utilisation. Ne pas utiliser de réactifs qui ont dépassé la date d'expiration.

Indicateurs de détérioration : Présence de particules et de turbidité.

MATÉRIEL SUPPLÉMENTAIRE

- Bain -marie à 37°C.

- Spectrophotomètre ou photomètre avec cuvette thermostable à 37°C pour des lectures à 600 nm (580-620 nm).

Ne pas congeler, la congélation de l'anticorps ou du diluant peut affecter leur fonctionnalité.

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma frais, recueilli avec héparine ou EDTA comme anticoagulants.

Stable 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C.

Les échantillons avec des restes de fibrine doivent être centrifugés.

Ne pas utiliser d'échantillons fortement hémolysés ou lypémiques.

PROCÉDURE

1. Chauffer les réactifs et le photomètre (porte-cuvettes) à 37°C.
2. Conditions de l'essai :
Longueur d'onde : 600 nm
Température : 37°C
Passage de lumière de la cuvette : 1 cm
3. Ajuster le spectrophotomètre à zéro par rapport à l'eau distillée.
4. Introduire la pipette dans une cuvette :

Réactif R1	800 μ L
Échantillon ou calibreur	10 μ L

5. Mélanger et lire l'absorbance (A_1) après l'ajout de l'échantillon.

6. Introduire la pipette dans la cuvette tout de suite après :

Réactif R2	200 μ L
------------	-------------

7. Mélanger et lire l'absorbance (A_2) exactement 2 minutes après avoir ajouté le réactif R2.

Spinreact dispose d'adaptations détaillées pour la plupart des analyseurs automatiques du marché. Veuillez contacter votre distributeur pour obtenir des informations.

CALCULS

Calculer la différence d'absorbances ($A_2 - A_1$) obtenues pour les différents calibreurs, et construire la courbe d'étalonnage des valeurs obtenues face aux concentrations d'IgA de chaque dilution du calibreur. La concentration d'IgA dans l'échantillon est calculée par interpolation de sa différence ($A_2 - A_1$) dans la courbe d'étalonnage.

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il est recommandé d'utiliser des sérums de contrôle, afin de contrôler les essais aussi bien lors de procédures manuelles qu'automatiques. Spinreact dispose du PROT CONTROL cod : 1102004.

Chaque laboratoire doit établir son propre Contrôle de Qualité et des corrections en cas de non-conformité des contrôles en termes de tolérances exigées.

VALEURS DE RÉFÉRENCE⁴

Entre 70 - 400 mg/dL. Chaque laboratoire devrait établir ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

1. Limite de linéarité : jusqu'à 600 mg/dL dans les conditions décrites de l'essai. Les échantillons avec des valeurs supérieures doivent être dilués 1/5 avec CINA 9 g/L et testés à nouveau. L'intervalle de mesure dépend du rapport échantillon/réactif. En réduisant le volume d'échantillon, on augmente la limite supérieure de l'intervalle de mesure, même si la sensibilité est réduite.
2. Limite de détection : les valeurs en dessous de 1 mg/dL entraînent des résultats peu reproductibles.
3. Sensibilité : Δ 2,1 mA / mg/dL (71mg/dL).
4. Effet prozone : Aucun effet prozone n'a été observé jusqu'à des valeurs de 2000 mg/dL.
5. Précision : Le réactif a été testé pendant 20 jours avec trois niveaux de sérum différents dans une étude basée sur les normes EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	127,7 mg/dL	196,9 mg/dL	416,3 mg/dL
Total	8,2%	5,2%	3,5%
Pendant l'exécution	1,7%	1,5%	1%
Entre l'exécution	2,2%	1,9%	2,4%
Entre jours	7,7%	4,6%	2,3%

6. Exactitude : Le comportement de cette méthode (y) a été comparé avec une méthode immunoturbidimétrique de Bayer. 46 échantillons de concentrations d'IgA entre 20 et 400 mg/dL ont été analysés avec les deux méthodes. Le coefficient de régression (r) a été de 0,97 et l'équation de la droite de régression $y = 1,16 x - 12,2$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier selon l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES^{5,6}

La bilirubine (50 mg/dL), l'hémoglobine (50 g/L) et les lipides (12,5 g/L), n'interfèrent pas. Les facteurs rhumatoïdes peuvent interférer à des concentrations supérieures à 900 UI/mL. D'autres substances peuvent interférer ^{5,6}.

REMARQUES

1. Le diagnostic clinique ne doit pas être réalisé uniquement avec les résultats d'un seul essai, mais doit également tenir compte des données cliniques du patient.

BIBLIOGRAPHIE

1. Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
2. Skoug Jonh W et al. Clin Chem 1988; 34/2: 309 - 315
3. Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
4. Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 517-520.
5. Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCPres, 1997.
6. Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACCPres, 1997.

PRÉSENTATION

Réf : 1103014

Cont.

R1. Diluant : 1 x 40 mL

R2. Anticorps : 1 x 10 mL

Determinação quantitativa de imunoglobulina A (IgA) IVD

Conservar a 2 - 8°C.

USO RECOMENDADO

É um ensaio turbidimétrico para a quantificação da IgA no soro ou plasma humano.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Os anticorpos anti-IgA formam compostos insolúveis quando combinados com a IgA da amostra do paciente, ocasionando uma alteração no valor da absorvância proporcional à da concentração da IgA na amostra, e que pode ser quantificada por comparação com um calibrador de IgA de concentração conhecida.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A IgA representa aproximadamente entre 10 e 15% do total de imunoglobulinas séricas. A sua estrutura é monomérica, similar à da IgG, mas a sua forma dimérica representa um total de 10-15% da IgA, especialmente a IgA₂, a qual é muito mais resistente à destruição de algumas bactérias patogénicas. Uma forma especial de IgA chama-se IgA secretora, que se encontra na saliva, lágrimas, suor, leite e secreções gástricas e bronquiais.

A IgA fica geralmente elevada em infecções da pele, pulmões, rins e na cirrose hepática. Podem ser detetados aumentos da concentração de IgA monoclonal em mielomas múltiplos e outras alterações das células plasmáticas.

REAGENTES

Solvente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, g/L, PEG 8000, pH, 8,3. Azida sódica 0,95 g/L.
Anticorpo (R2)	Soro de cabra, anti-IgA humana, pH 7,5. Azida sódica 0,95 g/L.
Opcional:	Cod: 1102003 PROT CAL.

CALIBRAÇÃO

O ensaio está calibrado com o Material de Referência CRM 470/RPPHS (*Institute for Reference Materials and Measurements, IRMM*). Deve utilizar-se o Calibrador PROT CAL para a Calibração. O reagente (tanto monoreagente como bireagente) deve ser recalibrado em cada mês, quando os controlos estão fora das especificações, e quando o lote de reagente ou a configuração do equipamento muda.

PREPARAÇÃO

Reagentes: Prontos para utilização.

Curva de Calibração: Preparar as seguintes diluições do Calibrador PROT CAL em NaCl 9 g/L como diluente. Para obter as concentrações de cada diluição de IgA, multiplicar a concentração de IgA do calibrador pelo factor correspondente indicado na tabela:

Diluição do calibrador	1	2	3	4	5	6
Calibrador (µL)	--	10	25	50	75	100
NaCl 9 g/L (µL)	100	90	75	50	25	-
Factor	0	0,1	0,25	0,5	0,75	1,0

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade indicada na embalagem quando os frascos são mantidos bem fechados a 2-8°C, e se evita a contaminação durante a utilização. Não utilizar reagentes que tenham ultrapassado o prazo.

Indicadores de deterioração: Presença de partículas e turvação

Não congelar; a congelação do Anticorpo ou Diluente pode afectar a funcionalidade dos mesmos.

MATERIAL ADICIONAL

- Banho de água a 37°C.

- Espectrofotómetro ou fotómetro com cuvete termostaticável a 37°C para leituras a a 600 nm (580-620 nm).

AMOSTRAS

Soro ou plasma fresco, recolhido com heparina ou EDTA como anticoagulantes.

Estável por 7 dias a 2-8°C ou 3 meses a -20°C.

As amostras com restos de fibrina devem ser centrifugadas.

Não utilizar amostras altamente hemolisadas ou lipémicas.

PROCEDIMENTO

- Aquecer os reagentes e o fotómetro (portacuvetes) a 37°C.
- Condições do ensaio:
 - Longitude de onda: 600 nm
 - Temperatura: 37°C
 - Passagem de luz na cuvete: 1 cm
- Ajustar o espectrofotómetro a zero frente a água destilada.
- Pipetar para uma cuvete:

Reagente R1	800 µL
Amostra ou Calibrador	10 µL

- Misturar e ler a absorvância (A₁) depois da adição da amostra.
- Imediatamente depois, pipetar para a cuvete:

Reagente R2	200 µL
-------------	--------

- Misturar e ler a absorvância (A₂) exactamente 2 minutos após a adição do reagente R2.

Spinreact dispõe de adaptações detalhadas para a maioria de analisadores automáticos do mercado. Solicite a informação ao seu distribuidor.

CÁLCULOS

Calcular a diferença de absorvâncias (A₂ - A₁) obtidas para os distintos calibradores, e construir a curva de calibração dos valores obtidos com as concentrações de IgA de cada diluição do Calibrador. A concentração de IgA na amostra calcula-se por interpolação da sua diferença (A₂ - A₁) na curva de calibração.

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se a utilização de soros controlo para controlar os ensaios tanto no procedimento manual como no automático. Spinreact dispõe do PROT CONTROL Ref: 1102004.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio Controlo de Qualidade e estabelecer correcções no caso de os controlos não cumprirem com as tolerâncias exigidas.

VALORES DE REFERÊNCIA⁴

Entre 70 - 400 mg/dL. É recomendável que cada laboratório estabeleça os seus próprios valores de referência.

CARACTERÍSTICAS DO METODO

- Intervalo de medida: até 600 mg/dL, nas condições descritas no ensaio. As amostras com valores superiores devem ser diluídas a 1/5 com NaCl 9 g/L e novamente testadas. O intervalo de medida depende da relação amostra/reagente. Diminuindo o volumen da amostra, aumenta-se o limite superior do intervalo de medida, embora se reduza a sensibilidade.
- Limite de detecção: valores abaixo de 1 mg/dL dão lugar a resultados pouco reprodutíveis.
- Sensibilidade: Δ 2.1 mA / mg/dL (71 mg/dL).
- Efeito prozona: Não se observa até valores de 2000 mg/dL.
- Precisão: o reagente foi testado durante 20 dias com três níveis diferentes de soro num estudo baseado nas normas EP5 (NCCLS).

EP5	CV (%)		
	127,7 mg/dL	196,9 mg/dL	416,3 mg/dL
Total	8,2%	5,2%	3,5%
Within Run	1,7%	1,5%	1%
Between Run	2,2%	1,9%	2,4%
Between Day	7,7%	4,6%	2,3%

- Exactidão: O comportamento deste método (y) foi comparado com um método imunoturbidimétrico de Bayer. 46 amostras de concentrações de IgA entre 20 e 400 mg/dL foram analisadas com ambos métodos. O coeficiente de regressão (r) foi de 0,97 e a equação da recta de regressão $y = 1,16x - 12,2$.

As características do método podem variar de acordó com o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS⁵⁻⁶

Bilirrubina (50 mg/dL), hemoglobina (50 g/L), e lípidos (12.5 g/L), não interferem. Os factores reumatóides podem interferir a concentrações superiores a 900 UI/mL. Outras substâncias podem interferir ^{5,6}.

NOTAS

- O diagnóstico clínico não deve realizar-se unicamente com os resultados de um único ensaio, devendo considerar-se simultaneamente toda a informação clínica do doente.

BIBLIOGRAFIA

- Clinical Guide to Laboratory Tests, Edited by NW Tietz W B Saunders Co., Philadelphia, 483, 1983.
- Skoug Jonh W et al. Clin Chem 1988; 34/2: 309 - 315
- Pesce AJ and Kaplan, LA. Methods in Clinical Chemistry. The CV Mosby Company, St. Louis MO, 1987.
- Dati F et al. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 517-520.
- Young DS. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 3th ed. AACC Pres, 1997.

APRESENTAÇÃO

Ref.: 1103014

Cont.

R1. Solvente: 1 x 40 mL
R2. Anticorpo: 1 x 10 mL