LDN®
IMMUNOASSAYS AND SERVICES
BIOGENIC AMINES & NEUROSCIENCE | ENDOCRINOLOGY | FOOD SAFETY
LABOR DIAGNOSTIKA NORD GmbH & Co. KG | Am Eichenhain 1 | 48531 Nordhorn | Germany | Tel. +49 5921 8197-0 | Fax +49 5921 8197-222 | info@ldn.de | www.ldn.de

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

Instructions for use / Gebrauchsanweisung

IgA Saliva ELISA

REF **SA E-6800**

1 INTENDED USE

For In Vitro Diagnostic Use.
For Laboratory Professional Use.
Iga Saliva ELISA is a manual in vitro diagnostic device intended for the quantitative determination of IgA in human saliva from an adult population.

2 CLINICAL SIGNIFICANCE

IgA represents about 15% to 20% of immunoglobulins in the blood, they are also found in the mucus secreted in the stomach, lungs and intestines. This prevents the microbes to bind to epithelial cells of the respiratory and digestive tract. This immunoglobulin helps to fight against pathogens that contact the body surface, are ingested, or are inhaled. It exists in two forms, IgA1 (90%) and IgA2 (10%) that differ in the structure. IgA1 is found in serum and made by bone marrow B cells, however IgA2 is made by B cells located in the mucosae and has been found to secrete into, colostrum, maternal milk, tears and saliva.
The IgA found in secretions have a special form. They are dimeric molecules, linked by two additional chains. One of these is the J chain (from join), which is a polypeptide of molecular mass 1.5 kD, rich with cysteine and structurally completely different from other immunoglobulin chains. The dimeric form of IgA in the outer secretions also has a polypeptide of the same molecular mass (1.5 kD) called the secretory chain and is produced by epithelial cells.
Decreased or absent IgA, termed selective IgA deficiency, can be a clinically significant immunodeficiency.

3 PRINCIPLE OF THE METHOD

IgA Saliva ELISA is based on the simultaneous binding of human IgA to two antibodies, one monoclonal immobilized on microwell plate and the other, polyclonal conjugated with horseradish peroxidase (HRP). After incubation the bound/free separation is performed by a simple solid-phase washing.
Then the enzyme HRP in the bound-fraction reacts with the Substrate (H_2O_2) and the TMB Substrate and develops a blue color that changes into yellow when the Stop Solution (H_2SO_4) is added.
The colour intensity is proportional to the IgA concentration in the sample.
The IgA concentration in the sample is calculated through a standard curve.

4 REAGENTS, MATERIALS AND INSTRUMENTATION

4.1 Reagents and materials supplied in the kit

1. Standards

Cat. no.	Component	Standard	Volume/Vial
SA E-6801	**STANDARD A**	Standard A	1 ml
SA E-6802	**STANDARD B**	Standard B	1 ml
SA E-6803	**STANDARD C**	Standard C	1 ml
SA E-6804	**STANDARD D**	Standard D	1 ml
SA E-6805	**STANDARD E**	Standard E	1 ml
Content:	ProClin > 0.0015%		

2. SA E-6851 **CONTROL** **Control**
Content: ProClin > 0.0015%;
Concentration of Control is Lot-specific and is indicated on the QC-Report.
Volume: 1 x 1 ml

3. SA E-6813 **ASSAY-BUFF 5x** **Assay Buffer** (5X concentrated)
Content: Hepes buffer 25 mM pH 7.4; BSA 0.5 g/l; ProClin > 0.0015%
Volume: 1 x 40 ml

4. SA E-6840 **CONJUGATE-CONC** **Enzyme Conjugate** (20X concentrated)
Content: Antibody anti-IgA conjugated with horseradish peroxidase (HRP);
ProClin > 0.0015%; BSA 0.1%
Volume: 1 x 1 ml

5. SA E-6831 **96** **Coated Microtiterwells**
Content: 1 breakable microplate; Antibody anti-IgA adsorbed on microplate

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

6. MS E-0055 **SUBSTRATE** **Substrate Solution**

Content: H_2O_2-TMB 0.26 g/l (avoid any skin contact); ProClin < 0.0015%

Volume: 1 x 15 ml

7. MS E-0080 **STOP-SOLN** **Stop Solution**

Content: Sulphuric acid 0.15 mol/l (avoid any skin contact)

Volume: 1 x 15 ml

8. SA E-0030 **WASH-CONC** **50x** **Wash Solution** (50X concentrated)

Content: NaCl 45 g/l; Tween-20 55 g/l; ProClin > 0.0015%

Volume: 1 x 20 ml

4.2 Materials required but not provided

Distilled water

4.3 Auxiliary materials and instrumentation

Automatic dispenser
Precision Pipetting Devices
Microplate reader (450 nm, 620 – 630 nm)

5 WARNINGS

- This kit is intended for in vitro use by professional persons only. Not for internal or external use in Humans or Animals.
- Use appropriate personal protective equipment while working with the reagents provided.
- Follow Good Laboratory Practice (GLP) for handling blood products.
- ⚠ Material of animal origin used in the preparation of the kit has been obtained from animals certified as healthy and the bovine protein has been obtained from countries not infected by BSE, but these materials should be handled as potentially infectious.
- Some reagents (standards, control, assay buffer, conjugate and wash solution) contain small amounts of ProClin™ 300 (> 0.0015%, < 0.06%) as preservative. Avoid contact with skin or mucosa.
- Classification according to Regulation (EC) No. 1272/2008 [CLP]
  Skin sensitivity, Category 1

Warning

- Contains: ProClin 300

Hazard statements:
H317 – May cause an allergic skin reaction.
Precautionary statements:
P261 – Avoid breathing dust/fume/gas/mist/vapours/spray.
P280 – Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection/hearing protection.
P321 – Specific treatment (see supplemental first aid instruction on this label).
P333+P313 – If skin irritation or rash occurs: Get medical advice/attention.
P362+P364 – Take off contaminated clothing and wash it before reuse.

- The TMB Substrate contains an irritant, which may be harmful if inhaled, ingested or absorbed through the skin. To prevent injury, avoid inhalation, ingestion or contact with skin and eyes.
- The Stop Solution consists of a diluted sulphuric acid solution. Sulphuric acid is poisonous and corrosive and can be toxic if ingested. To prevent chemical burns, avoid contact with skin and eyes.
- Avoid the exposure of reagent TMB/H_2O_2 to directed sunlight, metals or oxidants. Do not freeze the solution.

6 PRECAUTIONS

- Please adhere strictly to the sequence of pipetting steps provided in this protocol. The performance data represented here were obtained using specific reagents listed in this Instruction for Use.
- All reagents should be stored refrigerated at 2 °C – 8 °C in their original container. Any exceptions are clearly indicated. The reagents are stable until the expiry date when stored and handled as indicated.
- Allow all kit components and specimens to reach room temperature (22 °C – 28 °C) and mix well prior to use.
- Do not interchange kit components from different lots. The expiry date printed on box and vial labels must be observed. Do not use any kit component beyond their expiry date.
- If you use automated equipment the user has the responsibility to make sure that the kit has been appropriately validated for its intended use/purpose.
- The incomplete or inaccurate liquid removal from the wells could influence the assay precision and/or increase the background.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

To improve the performance of the kit on automatic systems is recommended to increase the number of washes.

- It is important that the time of reaction in each well is held constant for reproducible results. Pipetting of samples should not extend beyond ten minutes to avoid assay drift. If more than 10 minutes are needed, follow the same order of dispensation. If more than one plate is used, it is recommended to repeat the dose response curve in each plate.
- Addition of the TMB Substrate solution initiates a kinetic reaction, which is terminated by the addition of the Stop Solution. Therefore, the TMB Substrate and the Stop Solution should be added in the same sequence to eliminate any time deviation during the reaction.
- Observe the guidelines for performing quality control in medical laboratories by assaying controls and/or pooled saliva.
- Maximum precision is required for reconstitution and dispensation of the reagents.
- Plate readers measure vertically. Do not touch the bottom of the wells.
- Fresh disposable tips must be used when pipetting assay reagents including samples, standards and controls to mitigate the risk of carryover contamination. Failure to do so may lead to invalid results.

7 REAGENT STORAGE AND STABILITY

Store the kit at 2 °C – 8 °C in the dark.

- The kit is stable at 2 °C – 8 °C until the expiry date stated on the external kit label.
- Once opened, the kit is stable at 2 °C – 8 °C for 6 months*.
- The diluted wash solution is stable for 30 days at 2 °C – 8 °C.
- The diluted assay buffer solution is stable for 30 days at 2 °C – 8 °C.
- The diluted conjugate solution is stable 3 hours at room temperature (22 °C – 28 °C).

* in use stability data supports reagent stability when used three times within this period.
Important note: open the bag containing the Coated Microplate only when it is at room temperature and close it immediately after use.

8 SAMPLE COLLECTION AND STORAGE

The assay should be performed using saliva samples.

Sample Storage	**Duration**
2 – 8 °C	24 hours
Freeze/thaw cycles	1 cycle
-20 °C	6 months

9 PROCEDURE

9.1 Preparation of the Standards and Control

Before use, mix for 5 minutes with a rotating mixer.
The standards are ready for use and have the following concentration:

	A	B	C	D	E
µg/ml	0	6.9	62	132	400

Note: The standard concentrations are 1000 times lower than the values reported in the reference range because the samples are diluted 1:1000, while the standards are not diluted.
The Standards concentrations to be entered used for calculations are reported in the above table.
The control is ready to use; the concentration is printed on the label.

9.2 Preparation of the IgA Assay Buffer

Dilute the content of the vial **ASSAY-BUFF** **5x** with distilled or deionised water to a final volume of 200 ml prior to use. For smaller volumes respect the 1:5 dilution ratio.

9.3 Preparation of the Conjugate

Prepare immediately prior to use.
Add 50 µl of **CONJUGATE-CONC** to 950 µl of diluted IgA Assay Buffer (refer to section 9.2). The volume of diluted conjugate is proportional to the number of tests to be performed. Mix gently for 5 minutes with a rotating mixer.

9.4 Preparation of the Wash Solution

Dilute the content of each vial of the **WASH-CONC** **50x** with distilled water to a final volume of 1000 ml prior to use.
For smaller volumes respect the 1:50 dilution ratio.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

9.5 Preparation of Samples

The determination of IgA can be performed in human saliva samples.
It is advised to collect the sample using a centrifuge glass tube and a plastic straw.
Do not use plastic tubes or commercially available devices for saliva collection to avoid false results.
Let the saliva flow down through the straw into the centrifuge tube; then centrifuge at 3000 rpm per 15 minutes.
Prepare the sample by diluting the supernatant liquid 1:20 with diluted assay buffer (e.g.: 50 µl supernatant + 950 µl diluted assay buffer); then mix gently for at least 5 minutes on a rotating shaker.
Further dilute this 1:50 with diluted assay buffer (e.g.: 20 µl supernatant + 980 µl diluted assay buffer).
Final dilution obtained: 1:1000.
Store the sample at -20 °C if the determination is not performed on the same day of the sample collection. Before using, mix gently, for 5 minutes, with a roller mixer.

9.6 Procedure

Allow all reagents to reach room temperature (22 °C – 28 °C) for at least 30 minutes. At the end of the assay, immediately store the reagents at 2 °C – 8 °C: avoiding long exposure to room temperature.
Unused coated microwell strips should be released securely in the foil pouch containing desiccant and stored at 2 °C – 8 °C.
To avoid potential microbial and/or chemical contamination, unused reagents should never be transferred into the original vials.
As it is necessary to perform the determination in duplicate in order to improve accuracy of the test results, prepare two wells for each point of the standard curve (Standard A – E), two for each Control, two for each sample, one for Blank.

Reagent	Standard	Sample / Control	Blank
Standard A – E	25 µl		
Diluted Samples / Control		25 µl	
Diluted Conjugate	100 µl	100 µl	
Incubate 1 hour at room temperature (22 °C – 28 °C). Remove the contents from each well; wash the wells three times with 300 µl of diluted wash solution. **Important note:** during each washing step, gently shake the plate for 5 seconds and remove excess solution by tapping the inverted plate on an absorbent paper towel. **Automatic washer:** if you use automated equipment, wash the wells at least 5 times.			
TMB Substrate Solution	100 µl	100 µl	100 µl
Incubate at 22 – 28 °C for 15 minutes in the dark.			
Stop Solution	100 µl	100 µl	100 µl
Shake gently the microplate. Read the absorbance (E) at 450 nm against a reference wavelength of 620 – 630 nm or against Blank within 5 minutes.			

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

10 QUALITY CONTROL

Good Laboratory Practice (GLP) requires the use of quality control specimens in each series of assays in order to check the performance of the assay. Controls should be treated as unknown samples, and the results analysed with appropriate statistical methods.
The kit control provided in the kit should be tested as unknown and is intended to assist in assessing the validity of results obtained with each assay plate.
The mean concentration of the control level is documented in the QC report included with each kit. These mean concentration levels are determined over several assays which are run in duplicate in multiple locations across each plate.
The manufacturer recommends the users to maintain graphic records of the control values generated with each assay run, including the running means, SDs and %CVs. This information will facilitate the controls trending analysis relating to the performance of current and historical control lots relative to the supplied Quality Control data. The trending will assist in the identification of assays which give control values significantly different from their average range.
When interpreting control data, users should note that this product was designed and developed as a manual product. The range stated on the QC certificate should be appropriate for assays that are performed manually and with strict adherence to the Assay Procedure described above. It is recognised by Quality Control professionals, that as a result of differences in conditions and practices, there will always be variability in the mean values and precision of control measurements between different laboratories[13].

11 CALCULATION OF RESULTS

A variety of data reduction software packages are available, which may be employed to generate the mean standard curve and to calculate the mean concentrations of unknown samples and controls. A 4-parameter logistic (preferred) or smoothed cubic spline curve fit, **including Standard A is required.** Other curve fitting algorithms are not recommended.
Alternatively, a standard curve may be prepared on semi-log graph paper by plotting mean absorbance on the Y-axis against concentration of analyte on the X-axis. Standard A should be included in the standard curve. Read the mean absorbance value of each unknown sample off the curve.
In order for the assay results to be considered valid the kit standards and control must fall within the specifications detailed in the lot specific certificate of analysis.
If a control is out of its specified range, the associated test results are invalid and samples must be retested.

12 MEASURING RANGE

The assay measuring range (AMR) is 3 – 400 µg/ml.
Any value that reads below 3 µg/ml should be reported as "< 3 µg/ml". Any value that reads above 400 µg/ml should be reported as "> 400 µg/ml".

13 METROLOGY AND TRACEABILITY

The IgA Saliva ELISA has been standardised against in-house reference standards (purified IgA in analyte-free buffered protein matrix).

14 UNCERTAINTY OF MEASUREMENT

The uncertainty associated with the measurement of the assay standards (A – E) was determined following CLSI EP29-A "Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine; Approved Guideline". The uncertainty for each standard level was assessed over a minimum of 5 days (1 run per day) by 3 different operators. Result from one representative lot:

Standard	Mean conc. (µg/ml)	Standard uncertainty Uc (µg/ml)
Standard A	< LoB	N/A
Standard B	7.0	0.54
Standard C	59.47	4.19
Standard D	140.34	18.21
Standard E	390.52	40.26

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

15 EXPECTED VALUES

Based on the literature data and on the results obtained with the IgA Saliva ELISA, the range of normality is:

	IgA saliva
Range of normality	40 – 170 µg/ml

Please pay attention to the fact that the determination of a range of expected values for a "normal" population in a given method is dependent on many factors, such as specificity and sensitivity of the method used and type of population under investigation.
The above ranges should be considered as guidelines only; it is recommended that each laboratory establish its own expected range based upon its own patient population.

16 PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Representative performance data are shown. Results obtained at individual laboratories may vary.

16.1 Detection Capability

The limit of blank (LoB), limit of detection (LoD) and limit of quantitation (LoQ) were determined with guidance from CLSI EP17-A2, "Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation" using 6 blanks and 6 low level samples.

Sensitivity	**µg/ml**
Limit of Blank (LoB)	1.12 µg/ml
Limit of Detection (LoD)	2.3 µg/ml
Limit of Quantitation (LoQ)	3 µg/ml

16.2 Trueness

Trueness has been demonstrated through assessment of a serial dilution of a purified IgA standard prepared in-house.

16.3 Precision

Precision of the IgA Saliva ELISA was determined by performing a complex precision study.
Repeatability: A total of 5 saliva samples were assayed in 5 replicates, once a day for 5 days by 3 operators.
Data from 1 representative lot is shown below:

Sample	**n**	**Mean Conc. (µg/ml)**	**Repeatability**	
			SD	**CV%**
1	75	6.4	0.7	11%
2	75	39.1	1.9	5%
3	75	95.4	4.7	5%
4	75	134.4	9.9	7%
5	75	294.7	19.5	7%

Reproducibility: A total of 5 saliva samples were assayed in 5 replicates, once a day for 5 days by 3 operators.
Data from 1 representative lot is shown below:

Sample	**n**	**Mean Conc. (µg/ml)**	**Reproducibility**	
			SD	**CV%**
1	75	6.4	0.9	15%
2	75	39.1	3.4	9%
3	75	95.4	7.5	8%
4	75	134.4	11.6	9%
5	75	294.7	29.4	10%

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

16.4 Linearity

Linearity was evaluated based on CLSI EP-06 Ed2, "Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures". A serial dilution of high and low saliva samples was prepared to create a panel from above the upper limit of linearity (ULL) to below the lower limit of quantitation (LLOQ).
For IgA concentration by IgA Saliva ELISA, the measurement procedure shows linearity for the interval from 3 to 407.33 µg/ml within the allowable deviation of linearity (ADL) of ± 15% or ± 3 µg/ml for concentrations below LoQ.

16.5 Analytical Specificity

The specificity was assessed with the following cross-reactants.

Cross-reactant	Concentration tested (unit)	Mean %Cross reactivity
IgA1	40 µg/ml	80.2%
IgA2	40 µg/ml	11.4%
IgG	4000 µg/ml	0.1%
IgM	4000 µg/ml	0.3%

The following substances do not interfere with a bias of > 15% in the IgA Saliva ELISA when the concentrations are below the stated threshold presented in the following table.

Potentially Interfering Reagent	Threshold Concentration
Albumin	1 g/dl
Citric acid	1%
Haemoglobin	200 mg/dl

16.6 Hook effect

The hook effect was tested using concentrations of analyte up to 600 µg/ml. No hook effect was observed.

17 LIMITATIONS OF USE

- As in the case of any diagnostic procedure, results must be interpreted in conjunction with the patient's clinical presentation and other information available to the physician.
- The performance characteristics of this assay have not been established in a paediatric population.
- Heterophilic antibodies in human serum can react with reagent immunoglobulins, interfering with *in vitro* immunoassays[14]. Patients routinely exposed to animals or to animal serum products can be prone to this interference and anomalous values may be observed.

18 WASTE MANAGEMENT

Reagents must be disposed of in accordance with local regulations.
All materials that have come into contact with samples and reagents must be disposed of in accordance with country, state and local regulations.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

19 BIBLIOGRAPHY

1. Tomasi,T. B.,Jr., 19770436857, English, Book, USA, 9780134516097, Englewood Cliffs, New Jersey, The immune system of secretions., (xii + 161pp.), Prentice-Hall Inc., The immune system of secretions., (1976)
2. Ben-Aryeh H, Fisher M, Szargel R, Laufer D. Composition of whole unstimulated saliva of healthy children: changes with age. Arch Oral Biol. 1990;35(11):929-31. doi: 10.1016/0003-9969(90)90075-l. PMID: 1704211.
3. Smith DJ, Taubman MA, Ebersole JL. Ontogeny and senescence of salivary immunity. J Dent Res. 1987 Feb;66(2):451-6. doi:
4. 10.1177/00220345870660021101. PMID: 3040823.
5. Ventura MT. Evaluation of IgA1-IgA2 levels in serum and saliva of young and elderly people. Allergol Immunopathol (Madr). 1991 Sep-Oct;19(5):183-5. PMID: 1811413.
6. Kugler J, Hess M, Haake D. Secretion of salivary immunoglobulin A in relation to age, saliva flow, mood states, secretion of albumin, cortisol, and catecholamines in saliva. J Clin Immunol. 1992 Jan;12(1):45-9. doi: 10.1007/BF00918272. PMID: 1551941.
7. Jemmott JB 3rd, McClelland DC. Secretory IgA as a measure of resistance to infectious disease: comments on Stone, Cox, Valdimarsdottir, and Neale. Behav Med. 1989 Summer;15(2):63-71. doi: 10.1080/08964289.1989.9935153. PMID: 2663100.
8. Gregory RL, Kim DE, Kindle JC, Hobbs LC, Lloyd DR. Immunoglobulin-degrading enzymes in localized juvenile periodontitis. J Periodontal Res. 1992 May;27(3):176-83. doi: 10.1111/j.1600-0765.1992.tb01666.x. PMID: 1318974.
9. Ruan MS. [The relation of secretory IgA and caries]. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 1990 May;25(3):158-60, 190. Chinese. PMID: 2120009.
10. Jemmott JB 3rd, Magloire K. Academic stress, social support, and secretory immunoglobulin A. J Pers Soc Psychol. 1988 Nov;55(5):803-10. doi: 10.1037//0022-3514.55.5.803. PMID: 3210147.
11. Kugler J. Emotionale Befindlichkeit und Immunglobulin A im Speichel--Eine Literaturübersicht [Emotional status and immunoglobulin A in saliva--review of the literature]. Psychother Psychosom Med Psychol. 1991 Jun;41(6):232-42. German. PMID: 1886976.
12. Shirtcliff EA, Granger DA, Schwartz E, Curran MJ. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. Psychoneuroendocrinology. 2001 Feb;26(2):165-73. doi: 10.1016/s0306-4530(00)00042-1. PMID: 11087962.
13. An Introduction to Radioimmunoassay and Related Techniques 5th Edition, Volume 6 - October 4, 1995
14. Basic QC Practices On-line Course; http://www.Westgard.com.
15. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27–33

Please use only the valid version of the instructions for use provided with the kit.

Symbols:

	Storage temperature		Manufacturer		Contains sufficient for <n> tests
	Use-by date	LOT	Batch code	IVD	For in-vitro diagnostic use only!
	Consult instructions for use	CONT	Content		CE marking of conformity
	Caution	REF	Catalogue number		Distributor
	Date of manufacture				

1 VERWENDUNGSZWECK

Für die In-vitro-Diagnostik.
Für den professionellen Gebrauch im Labor.
Iga Saliva ELISA ist ein manuelles In-vitro-Diagnostikum zur quantitativen Bestimmung von IgA in humanem Speichel einer erwachsenen Bevölkerung.

2 KLINISCHE BEDEUTUNG

IgA macht etwa 15% bis 20% der Immunglobuline im Blut aus und ist auch im Schleim von Magen, Lunge und Darm enthalten. Dadurch wird verhindert, dass sich Mikroben an die Epithelzellen der Atemwege und des Verdauungstrakts binden können. Dieses Immunglobulin hilft bei der Bekämpfung von Krankheitserregern, die mit der Körperoberfläche in Berührung kommen, verschluckt oder eingeatmet werden. Es kommt in zwei Formen vor, IgA1 (90%) und IgA2 (10%), die sich in ihrer Struktur unterscheiden. IgA1 befindet sich im Serum und wird von B-Zellen im Knochenmark gebildet, während IgA2 von B-Zellen in den Schleimhäuten gebildet und durch Kolostrum, Muttermilch, Tränen und Speichel ausgeschieden wird.
Die in den Sekreten gefundenen IgA-Moleküle haben eine besondere Form. Es handelt sich um dimere Moleküle, die durch zwei zusätzliche Ketten verbunden sind. Eine davon ist die J-Kette (vom englischen Wort "join"), ein Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 1,5 kD, das reich an Cystein ist und sich strukturell komplett von den anderen Immunglobulinketten unterscheidet. Die dimere Form von IgA in den äußeren Sekreten hat ebenfalls ein Polypeptid mit der gleichen Molekülmasse (1,5 kD), das als sekretorische Kette bezeichnet wird und von Epithelzellen produziert wird.
Vermindertes oder fehlendes IgA, der so genannte selektive IgA-Mangel, kann ein klinisch bedeutsamer Immundefekt sein.

3 PRINZIP DER METHODE

Der IgA Saliva ELISA basiert auf der gleichzeitigen Bindung von humanem IgA an zwei Antikörper, einen monoklonalen, der auf einer Mikrotiterplatte immobilisiert ist, und einen polyklonalen, der mit Meerrettichperoxidase (HRP) konjugiert ist. Nach der Inkubation erfolgt die Trennung von gebundenem und freiem Enzym durch einfaches Waschen in der Festphase.
Anschließend reagiert das Enzym HRP in der gebundenen Fraktion mit dem Substrat (H_2O_2) und dem TMB-Substrat und entwickelt eine blaue Farbe, die bei Zugabe der Stopplösung (H_2SO_4) in Gelb übergeht.
Die Farbintensität ist proportional zu der IgA-Konzentration in der Probe.
Die IgA-Konzentration in der Probe wird anhand einer Standardkurve berechnet.

4 REAGENZIEN, MATERIALIEN UND GERÄTE

4.1 Im Kit enthaltene Reagenzien und Materialien

1. Standards

Artikelnr.	Komponente	Standard	Volumen/Fläschchen
SA E-6801	**STANDARD A**	Standard A	1 ml
SA E-6802	**STANDARD B**	Standard B	1 ml
SA E-6803	**STANDARD C**	Standard C	1 ml
SA E-6804	**STANDARD D**	Standard D	1 ml
SA E-6805	**STANDARD E**	Standard E	1 ml
Inhalt:	ProClin > 0,0015%		

2. SA E-6851	**CONTROL**	**Control** (Kontrolle)
Inhalt:	ProClin > 0,0015%; Die Konzentration der Kontrolle ist lotspezifisch und wird auf dem QC-Report angegeben.	
Volumen:	1 x 1 ml	

3. SA E-6813	**ASSAY-BUFF 5x**	**Assay Buffer** (5X konzentriert) (Assaypuffer)
Inhalt:	Hepespuffer 25 mM pH 7,4; BSA 0,5 g/l; ProClin > 0,0015%	
Volumen:	1 x 40 ml	

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

4. SA E-6840	**CONJUGATE-CONC**	**Enzyme Conjugate** (20X konzentriert) (Enzymkonjugat)
Inhalt:	Antikörper Anti-IgA, konjugiert mit Meerrettichperoxidase (HRP); ProClin > 0,0015%; BSA 0,1%	
Volumen:	1 x 1 ml	
5. SA E-6831	**96**	**Coated Microtiterwells** (Beschichtete Mikrotiterplatte)
Inhalt:	1 brechbare Mikrotiterplatte; Antikörper Anti-IgA an die Mikrotiterplatte gebunden	
6. MS E-0055	**SUBSTRATE**	**TMB Substrate** (TMB-Substrat)
Inhalt:	H_2O_2-TMB 0,26 g/l (vermeiden Sie jeglichen Hautkontakt); ProClin < 0,0015%	
Volumen:	1 x 15 ml	
7. MS E-0080	**STOP-SOLN**	**Stop Solution** (Stopplösung)
Inhalt:	Schwefelsäure 0,15 mol/l (vermeiden Sie jeglichen Hautkontakt)	
Volumen:	1 x 15 ml	
8. SA E-0030	**WASH-CONC** **50x**	**Wash Solution** (50X konzentriert) (Waschlösung)
Inhalt:	NaCl 45 g/l; Tween-20 55 g/l; ProClin < 0,0015%	
Volumen:	1 x 20 ml	

4.2 Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Destilliertes Wasser

4.3 Erforderliche Hilfsmittel und Messgeräte

Automatischer Dispenser
Präzisionspipettiergeräte
Mikrotiterplatten-Lesegerät (450 nm, 620 – 630 nm)

5 WARNUNGEN

- Dieses Testkit ist nur für In-vitro-Diagnostik zur Anwendung durch Fachpersonal bestimmt. Nicht zur inneren oder äußeren Anwendung bei Mensch oder Tier geeignet.
- Beim Arbeiten mit den enthaltenen Reagenzien geeignete persönliche Schutzausrüstung verwenden.
- Beim Arbeiten mit Blutprodukten die GLP-("Good laboratory practice") Richtlinien befolgen.
- ⚠ Das für die Herstellung des Kits verwendete Material tierischen Ursprungs stammt von Tieren, die als gesund zertifiziert wurden und das Rinderprotein wurde aus Ländern gewonnen, die nicht mit BSE infiziert sind.
- Manche Reagenzien (Standards, Kontrolle, Assaypuffer, Konjugat und Waschlösung) enthalten kleine Mengen an ProClin™ 300 (≥ 0,0015%, < 0,06%) als Konservierungsmittel. Kontakt mit der Haut oder Schleimhaut vermeiden.
- Einstufung gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 [CLP]
- Skin sens 1

Achtung

- Enthält: ProClin 300

Gefahrenhinweise:
H317 – Kann allergische Hautreaktionen verursachen.
Sicherheitshinweise:
P261 – Einatmen von Staub/Rauch/Gas/Nebel/Dampf/Aerosol vermeiden.
P280 – Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
P321 – Besondere Behandlung (siehe Erste Hilfe Anweisungen auf diesem Kennzeichnungsetikett).
P333+P313 – Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
P362+P364 – Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.

- Das TMB-Substrat enthält eine reizende Substanz, die beim Einatmen, Verschlucken oder der Aufnahme über die Haut gesundheitsschädlich sein kann. Um eine Schädigung zu verhindern, Einatmen, Verschlucken oder Kontakt mit der Haut oder den Augen vermeiden.
- Die Stopplösung besteht aus verdünnter Schwefelsäure. Schwefelsäure ist giftig und ätzend und kann bei Einnahme toxisch sein. Um Verätzungen zu verhindern, Kontakt mit der Haut oder den Augen vermeiden.
- Reagenz TMB/H_2O_2 keinem direkten Sonnenlicht, Metallen oder Oxidationsmitteln aussetzen. Die Lösung nicht einfrieren.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

6 VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die Reihenfolge der Pipettierschritte muss genau wie in dieser Anleitung angegeben eingehalten werden. Die hier dargestellten Daten zur Performance wurden unter Verwendung der in dieser Gebrauchsanweisung genannten spezifischen Reagenzien ermittelt.
- Alle Reagenzien im Originalbehälter kühl bei 2 °C – 8 °C lagern. Ausnahmen werden deutlich gekennzeichnet. Bei sachgemäßer Lagerung und Verwendung sind die Reagenzien bis zum Verfalldatum haltbar.
- Vor der Verwendung müssen alle Testkit-Komponenten und Proben Raumtemperatur (22 °C – 28 °C) annehmen und gut gemischt werden.
- Die Testkit-Komponenten zwischen unterschiedlichen Chargen nicht austauschen. Das auf dem Karton und den Fläschchen aufgedruckte Verfalldatum muss eingehalten werden. Die Testkit-Komponenten nach Ablauf ihres Verfalldatums nicht mehr verwenden.
- Wenn Sie automatisierte Geräte verwenden, ist der Benutzer dafür verantwortlich, dass das Kit für den vorgesehenen Verwendungszweck entsprechend validiert wurde.
- Eine unvollständige oder ungenaue Flüssigkeitsentnahme aus den Wells kann die Testgenauigkeit beeinflussen und/oder den Hintergrund erhöhen.
  Bei Verwendung von automatischen Systemen wird empfohlen, die Anzahl der Waschschritte zu erhöhen.
- Die Reaktionszeit muss für alle Wells konstant gehalten werden, damit die Ergebnisse reproduzierbar sind. Das Pipettieren der Proben sollte nicht länger als 10 Minuten dauern, um Testabweichungen zu vermeiden. Falls mehr als 10 Minuten benötigt werden, muss die Reihenfolge des Pipettierens eingehalten werden. Bei Verwendung von mehreren Platten wird empfohlen, die Dosis-Wirkungs-Kurve für jede Platte zu wiederholen.
- Durch die Zugabe der TMB-Substratlösung wird eine kinetische Reaktion gestartet, die durch die Zugabe der Stopplösung beendet wird. Deshalb müssen die TMB-Substrat- und die Stopplösung jeweils in derselben Reihenfolge pipettiert werden, um Zeitabweichungen während der Reaktion zu vermeiden.
- Die Richtlinien zur Qualitätskontrolle im medizinischen Labor müssen befolgt werden, indem Kontrollen und/oder gepoolte Speichelproben mit untersucht werden.
- Beim Lösen und Pipettieren der Reagenzien ist größte Genauigkeit erforderlich.
- Mikrotiterplatten-Lesegeräte lesen vertikal ab. Nicht die Unterseite der Wells berühren.
- Beim Pipettieren von Testreagenzien, einschließlich Proben, Standards und Kontrollen, müssen frische Einwegspitzen verwendet werden, um das Risiko einer Verschleppungskontamination zu verringern. Andernfalls kann dies zu ungültigen Ergebnissen führen.

7 LAGERUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Das Kit bei 2 °C – 8 °C im Dunkeln lagern.

- Das Kit ist bei 2 °C – 8 °C bis zu dem auf dem äußeren Etikett des Kits angegebenen Verfalldatum stabil.
- Nach dem Öffnen ist das Kit bei 2 °C – 8 °C für 6 Monate* stabil.
- Die verdünnte Waschlösung ist bei 2 °C – 8 °C für 30 Tage stabil.
- Die verdünnte Assay-Pufferlösung ist bei 2 °C – 8 °C 30 Tage lang stabil.
- Die verdünnte Konjugatlösung ist 3 Stunden bei Raumtemperatur (22 °C – 28 °C) stabil.

* Die Stabilitätsdaten für den Gebrauch bestätigen die Stabilität des Reagenzes bei dreimaliger Verwendung innerhalb dieses Zeitraums.

Wichtiger Hinweis: Den Beutel mit der beschichteten Mikrotiterplatte nur öffnen, wenn er Raumtemperatur hat und sofort nach Gebrauch verschließen.

8 PROBENENTNAHME UND -LAGERUNG

Der Test sollte mit Speichelproben durchgeführt werden.

Probenlagerung	**Dauer**
2 – 8 °C	24 Stunden
Gefrier-/Auftauzyklen	1 Zyklus
-20 °C	6 Monate

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

9 VERFAHREN

9.1 Vorbereitung der Standards und Kontrolle

Vor der Verwendung 5 Minuten lang mit einem rotierenden Mixer mischen.
Die Standards sind gebrauchsfertig und haben die folgende Konzentration:

	A	B	C	D	E
µg/ml	0	6,9	62	132	400

Hinweis: Die Standardkonzentrationen sind 1000-mal niedriger als die im Referenzbereich angegebenen Werte, da die Proben im Verhältnis 1:1000 verdünnt werden, während die Standards nicht verdünnt werden.
Die einzugebenden Standardkonzentrationen, die für die Berechnungen verwendet werden, sind in der obigen Tabelle angegeben.
Die Kontrolle ist gebrauchsfertig; die Konzentration ist auf dem Etikett angegeben.

9.2 Vorbereitung des IgA-Assaypuffers

Den Inhalt des Fläschchens **ASSAY-BUFF** **5x** mit destilliertem oder deionisiertem Wasser auf ein Endvolumen von 200 ml vor der Verwendung verdünnen. Bei kleineren Volumina ist das Verdünnungsverhältnis 1:5 einzuhalten.

9.3 Vorbereitung des Konjugats

Unmittelbar vor der Verwendung vorbereiten.
50 µl **CONJUGATE-CONC** zu 950 µl verdünntem IgA-Assaypuffer hinzufügen (siehe Abschnitt 9.2). Das Volumen des verdünnten Konjugats ist proportional zu der Anzahl der durchzuführenden Tests. 5 Minuten lang mit einem rotierenden Mixer vorsichtig mischen.

9.4 Vorbereitung der Waschlösung

Den Inhalt jedes Fläschchens **WASH-CONC** **50x** vor der Verwendung mit destilliertem Wasser auf ein Endvolumen von 1000 ml verdünnen.
Bei kleineren Volumina ist das Verdünnungsverhältnis 1:50 einzuhalten.

9.5 Vorbereitung der Proben

Die Bestimmung von IgA kann in humanen Speichelproben durchgeführt werden.
Es wird empfohlen, die Probe mit einem Zentrifugenglasröhrchen und einem Plastikstrohhalm zu sammeln.
Keine Plastikröhrchen oder handelsüblichen Geräte zur Speichelsammlung verwenden, um falsche Ergebnisse zu vermeiden.
Den Speichel durch den Strohhalm in das Zentrifugenröhrchen fließen lassen; dann bei 3000 U/min für 15 Minuten zentrifugieren.
Die Probe wird vorbereitet, indem die überstehende Flüssigkeit 1:20 mit verdünntem Assaypuffer verdünnt wird (z.B.: 50 µl Überstand + 950 µl verdünnter Assaypuffer); anschließend vorsichtig mindestens 5 Minuten lang auf einem rotierenden Schüttler mischen.
Weiter mit verdünntem Assaypuffer im Verhältnis 1:50 verdünnen (z.B.: 20 µl Überstand + 980 µl verdünnter Assaypuffer).
Endgültige Verdünnung: 1:1000.
Die Probe bei -20 °C aufbewahren, wenn die Bestimmung nicht am selben Tag der Probenentnahme erfolgt. Vor der Verwendung 5 Minuten lang vorsichtig mit einem Rollmischer mischen.

9.6 Verfahren

Alle Reagenzien mindestens 30 Minuten lang Raumtemperatur (22 °C – 28 °C) annehmen lassen.
Nach Beendigung des Tests sind die Reagenzien sofort bei 2 °C – 8 °C zu lagern: Vermeidung einer langen Lagerung bei Raumtemperatur.
Unbenutzte beschichtete Mikrotiterstreifen sollten sicher in dem Folienbeutel mit Trockenmittel aufbewahrt und bei 2 °C – 8 °C gelagert werden.
Um eine mögliche mikrobielle und/oder chemische Kontamination zu vermeiden, sollten unbenutzte Reagenzien niemals in die Originalfläschchen umgefüllt werden.
Da es zur Verbesserung der Genauigkeit der Testergebnisse erforderlich ist, die Bestimmung in Doppelbestimmung durchzuführen, sind zwei Wells für jeden Punkt der Standardkurve (Standard A – E), zwei für jede Kontrolle, zwei für jede Probe und eine für den Blank vorzubereiten.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

Reagenz	Standard	Probe / Kontrolle	Blank
Standard A – E	25 µl		
Verdünnte Proben / Kontrolle		25 µl	
Verdünntes Konjugat	100 µl	100 µl	
1 Stunde bei Raumtemperatur (22 °C – 28 °C) inkubieren. Den Inhalt aus jedem Well entfernen; die Wells dreimal mit 300 µl verdünnter Waschlösung waschen. **Wichtiger Hinweis:** Bei jedem Waschschritt die Platte 5 Sekunden lang vorsichtig schütteln und überschüssige Flüssigkeit durch Klopfen der umgedrehten Platte auf ein saugfähiges Papiertuch entfernen. **Automatisches Waschgerät:** Bei Verwendung eines Waschautomaten die Wells mindestens 5-mal waschen.			
TMB-Substrat Lösung	100 µl	100 µl	100 µl
15 Minuten lang bei 22 – 28 °C im Dunkeln inkubieren.			
Stopplösung	100 µl	100 µl	100 µl
Mikrotiterplatte vorsichtig schütteln. Messen Sie die Absorption (E) bei 450 nm gegen eine Referenzwellenlänge von 620 – 630 nm oder gegen den Blank innerhalb von 5 Minuten.			

10 QUALITÄTSKONTROLLE

Die gute Laborpraxis (GLP) erfordert die Verwendung von Qualitätskontrollproben in jeder Testreihe, um die Leistungsfähigkeit des Tests zu überprüfen. Die Kontrollen sollten wie unbekannte Proben behandelt und die Ergebnisse mit geeigneten statistischen Methoden ausgewertet werden.
Die im Kit enthaltene Kontrolle sollte als unbekannte Probe getestet werden und dient dazu, die Gültigkeit der mit jeder Testplatte erzielten Ergebnisse zu beurteilen.
Die mittlere Konzentration der Kontrollmenge wird im QC-Report dokumentiert, der jedem Kit beiliegt. Diese mittleren Konzentrationswerte werden über mehrere Assays ermittelt, die an mehreren Stellen auf jeder Platte in Doppelbestimmung durchgeführt werden.
Der Hersteller empfiehlt den Anwendern, grafische Aufzeichnungen über die Kontrollwerte zu führen, die bei jedem Testdurchlauf erzeugt werden, einschließlich der laufenden Mittelwerte, SDs und %CVs. Diese Informationen erleichtern die Trendanalyse der Kontrollen in Bezug auf die Leistung der aktuellen und historischen Kontrollchargen im Vergleich zu den gelieferten Qualitätskontrolldaten. Die Trendanalyse hilft bei der Identifizierung von Assays, die Kontrollwerte liefern, die signifikant von ihrem Durchschnittsbereich abweichen.
Bei der Interpretation der Kontrolldaten sollten die Benutzer beachten, dass dieses Produkt als manuelles Produkt konzipiert und entwickelt wurde. Der auf dem QC-Zertifikat angegebene Bereich sollte für Assays geeignet sein, die manuell und unter strikter Einhaltung des oben beschriebenen Assay-Verfahrens durchgeführt werden. Fachleute für Qualitätskontrolle sind sich darüber im Klaren, dass aufgrund unterschiedlicher Bedingungen und Praktiken die Mittelwerte und die Präzision von Kontrollmessungen zwischen verschiedenen Laboratorien immer variieren werden[13].

11 BERECHNUNG DER ERGEBNISSE

Es stehen verschiedene Softwarepakete zur Datenreduktion zur Verfügung, die zur Erstellung der mittleren Standardkurve und zur Berechnung der mittleren Konzentrationen der unbekannten Proben und Kontrollen verwendet werden können. Eine logistische 4-Parameter-Kurvenanpassung (bevorzugt) oder eine geglättete kubische Spline-Kurvenanpassung, **einschließlich Standard A, ist erforderlich**. Andere Algorithmen zur Kurvenanpassung werden nicht empfohlen.
Alternativ kann eine Standardkurve auf halblogarithmischem Millimeterpapier erstellt werden, indem die mittlere Absorption auf der Y-Achse gegen die Konzentration des Analyten auf der X-Achse aufgetragen wird. Standard A sollte in die Standardkurve aufgenommen werden. Den mittleren Absorptionswert jeder unbekannten Probe an der Kurve ablesen.
Damit die Testergebnisse als gültig angesehen werden können, müssen die Kit-Standards und die Kontrolle innerhalb der Spezifikationen liegen, die im lotspezifischen Analysenzertifikat angegeben sind.
Liegt eine Kontrolle außerhalb ihres spezifizierten Bereichs, sind die zugehörigen Testergebnisse ungültig und die Proben müssen erneut getestet werden.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

12 MESSBEREICH

Der Assay-Messbereich (AMR) beträgt 3 – 400 µg/ml.
Jeder Wert, der unter 3 µg/ml liegt, sollte als „< 3 µg/ml" angegeben werden. Jeder Wert, der über 400 µg/ml liegt, sollte als „> 400 µg/ml" angegeben werden.

13 METROLOGIE UND RÜCKVERFOLGBARKEIT

Der IgA Saliva ELISA wurde anhand von hausinternen Referenzstandards (gereinigtes IgA in analysefreier gepufferter Proteinmatrix) standardisiert.

14 MESSUNSICHERHEIT

Die mit der Messung der Assay-Standards (A – E) verbundene Unsicherheit wurde gemäß CLSI EP29-A „Expression of Measurement Uncertainty in Laboratory Medicine; Approved Guideline" bestimmt. Die Unsicherheit für jedes Standardniveau wurde über einen Zeitraum von mindestens 5 Tagen (1 Durchlauf pro Tag) von 3 verschiedenen Bedienern bewertet. Ergebnis aus einem repräsentativen Lot:

Standard	Mittlere Konz. (µg/ml)	Standardunsicherheit Uc (µg/ml)
Standard A	< LoB	N/A
Standard B	7,0	0,54
Standard C	59,47	4,19
Standard D	140,34	18,21
Standard E	390,52	40,26

15 ERWARTETE WERTE

Auf der Grundlage der Literaturdaten und der mit dem IgA Saliva ELISA erzielten Ergebnisse liegt der Normalitätsbereich bei:

	IgA Speichel
Normalitätsbereich	40 – 170 µg/ml

Bitte beachten Sie, dass die Bestimmung eines Bereichs erwarteter Werte für eine "normale" Bevölkerung bei einer bestimmten Methode von vielen Faktoren abhängt, z.B. von der Spezifität und Empfindlichkeit der verwendeten Methode und der Art der untersuchten Bevölkerung.
Die oben genannten Bereiche sollten nur als Richtlinien betrachtet werden; es wird empfohlen, dass jedes Labor seinen eigenen erwarteten Bereich auf der Grundlage seiner eigenen Patientenpopulation festlegt.

16 LEISTUNGSMERKMALE

Es werden repräsentative Leistungsdaten gezeigt. Die in den einzelnen Laboren erzielten Ergebnisse können abweichen.

16.1 Detektionsfähigkeit

Die Leerwertgrenze "Limit of Blank" (LoB), die Nachweisgrenze "Limit of Detection" (LoD) und die Bestimmungsgrenze "Limit of Quantitation" (LoQ) wurden anhand der CLSI EP17-A2 „Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation" (Protokolle zur Bestimmung von Nachweis- und Bestimmungsgrenzen) unter Verwendung von 6 Leerwertproben und 6 Proben mit niedrigem Gehalt bestimmt.

Sensitivität	µg/ml
Limit of Blank (LoB)	1,12 µg/ml
Limit of Detection (LoD)	2,3 µg/ml
Limit of Quantitation (LoQ)	3 µg/ml

16.2 Richtigkeit

Die Richtigkeit wurde durch die Bewertung einer seriellen Verdünnung eines intern hergestellten gereinigten IgA-Standards nachgewiesen.

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

16.3 Präzision

Die Präzision des IgA Saliva ELISA wurde durch eine komplexe Präzisionsstudie ermittelt.
Wiederholbarkeit: Insgesamt wurden 5 Speichelproben in 5 Wiederholungen, einmal täglich über 5 Tage von 3 Anwendern untersucht.
Nachfolgend sind die Daten von 1 repräsentativen Lot dargestellt:

Probe	n	Mittlere Konz. (µg/ml)	Wiederholbarkeit	
			SD	CV%
1	75	6,4	0,7	11%
2	75	39,1	1,9	5%
3	75	95,4	4,7	5%
4	75	134,4	9,9	7%
5	75	294,7	19,5	7%

Reproduzierbarkeit: Insgesamt wurden 5 Speichelproben in 5 Wiederholungen, einmal pro Tag über 5 Tage von 3 Mitarbeitern untersucht.
Nachfolgend sind die Daten von einer repräsentativen Lot dargestellt:

Probe	n	Mittlere Konz. (µg/ml)	Reproduzierbarkeit	
			SD	CV%
1	75	6,4	0,9	15%
2	75	39,1	3,4	9%
3	75	95,4	7,5	8%
4	75	134,4	11,6	9%
5	75	294,7	29,4	10%

16.4 Linearität

Die Linearität wurde auf der Grundlage von CLSI EP-06 Ed2, „Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures", bewertet. Es wurde eine serielle Verdünnung von hohen und niedrigen Speichelproben hergestellt, um ein Panel von oberhalb der oberen Grenze der Linearität (ULL) bis unterhalb der unteren Grenze der Quantifizierung (LLOQ) zu erstellen.
Für die IgA-Konzentration mittels IgA Saliva ELISA zeigt das Messverfahren Linearität für den Bereich von 3 bis 407,33 µg/ml innerhalb der zulässigen Linearitätsabweichung (ADL) von ± 15% oder ± 3 µg/ml für Konzentrationen unterhalb der LoQ.

16.5 Analytische Spezifität

Die Spezifität wurde mit den folgenden Kreuzreaktionspartnern bewertet.

Kreuzreaktions-partner	Getestete Konzentration (Einheit)	Mittlere %Kreuzreaktivität
IgA1	40 µg/ml	80,2%
IgA2	40 µg/ml	11,4%
IgG	4000 µg/ml	0,1%
IgM	4000 µg/ml	0,3%

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

Die folgenden Substanzen stören den IgA Saliva ELISA nicht mit einer Verzerrung von > 15%, wenn die Konzentrationen unter dem in der folgenden Tabelle angegebenen Schwellenwert liegen.

Potenziell störendes Reagenz	Schwellenwert Konzentration
Albumin	1 g/dl
Zitronensäure	1%
Hämoglobin	200 mg/dl

16.6 Hook-Effekt

Der Hook-Effekt wurde mit Analytkonzentrationen von bis zu 600 µg/ml getestet. Es wurde kein Hook-Effekt beobachtet.

17 GRENZEN DES TESTS

- Wie bei jedem diagnostischen Verfahren müssen die Ergebnisse in Verbindung mit dem klinischen Bild des Patienten und anderen dem Arzt vorliegenden Informationen interpretiert werden.
- Die Leistungsmerkmale dieses Tests wurden nicht in einer pädiatrischen Population ermittelt.
- Heterophile Antikörper im Humanserum können mit Reagenz-Immunglobulinen reagieren und In-vitro-Immunoassays stören[14]. Bei Patienten, die routinemäßig mit Tieren oder tierischen Serumprodukten in Kontakt kommen, kann es zu dieser Interferenz kommen und es können anomale Werte beobachtet werden.

18 ABFALLENTSORGUNG

Die Reagenzien müssen gemäß den örtlichen Vorschriften entsorgt werden.
Alle Materialien, die mit Proben und Reagenzien in Berührung gekommen sind, müssen gemäß den Vorschriften des Landes, des Staates und der Gemeinde entsorgt werden.

19 BIBLIOGRAPHIE

1. Tomasi,T. B.,Jr., 19770436857, English, Book, USA, 9780134516097, Englewood Cliffs, New Jersey, The immune system of secretions., (xii + 161pp.), Prentice-Hall Inc., The immune system of secretions., (1976)
2. Ben-Aryeh H, Fisher M, Szargel R, Laufer D. Composition of whole unstimulated saliva of healthy children: changes with age. Arch Oral Biol. 1990;35(11):929-31. doi: 10.1016/0003-9969(90)90075-l. PMID: 1704211.
3. Smith DJ, Taubman MA, Ebersole JL. Ontogeny and senescence of salivary immunity. J Dent Res. 1987 Feb;66(2):451-6. doi:
4. 10.1177/00220345870660021101. PMID: 3040823.
5. Ventura MT. Evaluation of IgA1-IgA2 levels in serum and saliva of young and elderly people. Allergol Immunopathol (Madr). 1991 Sep-Oct;19(5):183-5. PMID: 1811413.
6. Kugler J, Hess M, Haake D. Secretion of salivary immunoglobulin A in relation to age, saliva flow, mood states, secretion of albumin, cortisol, and catecholamines in saliva. J Clin Immunol. 1992 Jan;12(1):45-9. doi: 10.1007/BF00918272. PMID: 1551941.
7. Jemmott JB 3rd, McClelland DC. Secretory IgA as a measure of resistance to infectious disease: comments on Stone, Cox, Valdimarsdottir, and Neale. Behav Med. 1989 Summer;15(2):63-71. doi: 10.1080/08964289.1989.9935153. PMID: 2663100.
8. Gregory RL, Kim DE, Kindle JC, Hobbs LC, Lloyd DR. Immunoglobulin-degrading enzymes in localized juvenile periodontitis. J Periodontal Res. 1992 May;27(3):176-83. doi: 10.1111/j.1600-0765.1992.tb01666.x. PMID: 1318974.
9. Ruan MS. [The relation of secretory IgA and caries]. Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi. 1990 May;25(3):158-60, 190. Chinese. PMID: 2120009.
10. Jemmott JB 3rd, Magloire K. Academic stress, social support, and secretory immunoglobulin A. J Pers Soc Psychol. 1988 Nov;55(5):803-10. doi: 10.1037//0022-3514.55.5.803. PMID: 3210147.
11. Kugler J. Emotionale Befindlichkeit und Immunglobulin A im Speichel--Eine Literaturübersicht [Emotional status and immunoglobulin A in saliva--review of the literature]. Psychother Psychosom Med Psychol. 1991 Jun;41(6):232-42. German. PMID: 1886976.
12. Shirtcliff EA, Granger DA, Schwartz E, Curran MJ. Use of salivary biomarkers in biobehavioral research: cotton-based sample collection methods can interfere with salivary immunoassay results. Psychoneuroendocrinology. 2001 Feb;26(2):165-73. doi: 10.1016/s0306-4530(00)00042-1. PMID: 11087962.
13. An Introduction to Radioimmunoassay and Related Techniques 5th Edition, Volume 6 - October 4, 1995
14. Basic QC Practices On-line Course; http://www.Westgard.com.
15. Boscato, LM. and Stuart, MC., 'Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays'. *Clin Chem*, 34, 1988, pp 27–33

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

Please use only the valid version of the Instructions for Use provided with the kit

Symbole:

	Lagertemperatur		Hersteller		Enthält Testmaterial für <n> Teste
	Verwendbar bis	LOT	Chargennummer	IVD	In vitro Diagnostikum
	Gebrauchsanweisung beachten	CONT	Inhalt		CE-Kennzeichnung
	Achtung	REF	Katalognummer		Vertriebspartner
	Herstellungsdatum				