

Instructions for use



Sanquin Reagents B.V.
Plesmanlaan 125
1066 CX Amsterdam
The Netherlands

Phone: +31 20 5123599
Fax: +31 20 5123570
reagents@sanquin.nl
www.sanquin.org/reagents

PeliClass human IgG subclass Plus kit	REF M1895	IVD CE
PeliClass sheep anti human IgG1 Plus	REF M1891	IVD CE
PeliClass sheep anti human IgG2 Plus	REF M1892	IVD CE
PeliClass latex sheep anti human IgG3 Plus	REF M1893	IVD CE
PeliClass latex sheep anti human IgG4 Plus	REF M1894	IVD CE
PeliClass human IgG subclass Plus calibrator set	REF M1896	IVD CE
PeliClass human IgG subclass Plus control 1	REF M1897	IVD CE
PeliClass human IgG subclass Plus control 2	REF M1898	IVD CE

301_v03 06/2018 (sk)

Len na profesionalne použitie

- Súprava pre kvantitatívne stanovenie podtried ľudského IgG v sére a plazme na analyzátoroch Beckman IMMAGE® / IMMAGE 800®

CAL	CONTROL	NEPH	NEPH/NIPIA	NIPIA	ORG	≥≤
Kalibrátor	Kontrola	Nefelometria	Nefelometria / NIPIA	NIPIA	Pôvod	Rozsah

Všeobecné informácie

Ľudský IgG zahŕňa štyri podtriedy: IgG1, IgG2, IgG3 a IgG4. Biochemické charakteristiky podtried IgG boli rozsiahle popísané (1–5). Rozdiely medzi podtriedami IgG sa odrážajú v niekoľkých biologicky dôležitých funkciách, akými sú rozpoznávanie antigénov, aktivácia komplementu a väzba na povrchové bunkové receptory. Rad štúdií odhalil, že abnormálne hladiny podtried IgG v sére môžu súvisieť s rôznymi ochoreniami (6). Rozsiahle zdokumentovaná je najmä spojitost selektívneho nedostatku podtriedy IgG2 so zvýšenou náchylnosťou k vírusovým alebo bakteriálnym infekciám (4, 5). Nízke hladiny IgG2 alebo IgG3 v sére boli popísané u pacientov s opakovanými sa vyskytujúcimi infekciami horných a dolných dýchacích ciest. V iných štúdiách bola popísaná súvislosť medzi veľmi nízkou koncentráciou IgG4 v sére a opakovanými sa vyskytujúcimi sinopulmonálnymi infekciami (7). Abnormálne hladiny podtried IgG v sére boli tiež pozorované pri autoimunitných ochoreniach, neurologických poruchách a infekcií vírusom HIV (4, 6).

Princípy testu

Súprava PeliClass™ human IgG subclass **Plus** je určená na rýchle, reprodukovateľné a špecifické kvantitatívne stanovenie podtried ľudského IgG (IgG1, IgG2, IgG3 a IgG4).

Nefelometrické stanovenie IgG1 a IgG2 v sére je založené na špecifickej reakcii s monošpecifickým antiserom s vysokou aviditou proti podtriedam IgG. Turbidimetrické stanovenie IgG3 a IgG4 v sére je pre dosiahnutie vyššej analytickej citlivosti založené na špecifickej reakcii s latexovým činidlom potiahnutým monošpecifickými protilátkami s vysokou aviditou proti podtriedam IgG.

Séra s frakcionovanými ovčimi protilátkami proti podtriedam ľudského IgG sa vyrábajú ako špecifické pomocou absorpcie s izolovanými gamaglobulínmi nežiaducich podtried IgG a v prípade potreby pomocou absorpcie s izolovanými frakciami séra (8–10). Polyklonálne reagencie v tejto súprave sú špecifické pre podtriedy ľudského IgG a boli vybrané pre vysokú aviditu. Nefelometrické a turbidimetrické kvantitatívne stanovenia sú založené na tvorbe imunokomplexov, ktorá je kvantitatívne vyjadrená pomocou merania rozptýleného svetla pri nefelometrii a prechádzajúceho svetla v prípade turbidimetrie. Koncentrácie podtried IgG v meraných vzorkách sa stanovujú porovnaním s referenčnou krivkou získanou pomocou dodaných kalibrátorov podtried IgG.

Pre kontrolu platnosti referenčných kriviek a správnosti stanovení podtried IgG sú analyzované kontrolné séra s podtriedami IgG.

Hladiny podtried IgG v kalibrátoroch boli stanovené použitím materiálu ERM-DA470 ako kalibrátora. Priradené hodnoty sú 6,210 g/L pre IgG1, 3,450 g/L pre IgG2, 0,390 g/L pre IgG3 a 0,591 g/L pre IgG4 a sú odvodené z WHO 67/97 (11).

Skladovanie a stabilita

Všetky zložky sú stabilné až do dátumu expirácie uvedenom na štítku, ak sú skladované pri teplote 2–8°C. Podmienky pre prepravu sa môžu líšiť od skladovacích podmienok. Latexové reagencie pre stanovenie IgG3 a IgG4 nezmrazujte.

Po otvorení sú zložky skladované pri teplote 2–8°C stabilné 1 mesiac, v závislosti od dátumu expirácie uvedenom na štítku.

Po dokončení každodennej pracovnej náplne zložky znova uskladnite pri teplote 2–8°C.

Pred uskladnením zásobníkov s reagenciami na ne znova nasadte uzávery proti odparovaniu so šrubovacími uzávermi.

Kalibračné krivky sú stabilné najmenej 1 mesiac, ale pre kontrolu platnosti kalibračných kriviek vždy použite kontrolné séra.

Obsah balenia

Súprava PeliClass™ human IgG subclass **Plus** umožňuje kvantitatívne stanovenie štyroch podtried ľudského IgG v 50 testoch, vrátane kalibrátorov a kontrol. Všetky zložky uvedené na prvej strane tejto príbalovej informácie môžete objednať samostatne.

Ovčie protilátky proti ľudskému IgG1	1x 2.4 mL	REF	M1891
Ovčie protilátky proti ľudskému IgG2	1x 2.9 mL	REF	M1892
Latexom obohatené ovčie protilátky proti ľudskému IgG3	1x 4.0 mL	REF	M1893
Latexom obohatené ovčie protilátky proti ľudskému IgG4	1x 4.0 mL	REF	M1894
Sada kalibrátorov podtried ľudského IgG	7x 1.0 mL	REF	M1896
Kontrola 1 pre podtriedy ľudského IgG	1x 1.0 mL	REF	M1897
Kontrola 2 pre podtriedy ľudského IgG	1x 1.0 mL	REF	M1898

Antiséra pre stanovenie IgG1 a IgG2 sú špecifické kvapalnú ovčie séra.

Latexové reagencie pre stanovenie IgG3 a IgG4 predstavujú suspenziu polystyrénových častíc potiahnutých špecifickými ovčimi protilátkami.

Kalibrátory a kontroly sú kvapalnú ľudská séra. Konzervačná látka: Na₂S₂O₃ 0,1% (w/v).

Ďalšie materiály alebo zariadenia

- Beckman Coulter IMMAGE® / IMMAGE 800® Immunochemistry System.
- Beckman Coulter IMMAGE® Pufor1.
- Beckman Coulter IMMAGE® Pufor3.
- Beckman Coulter IMMAGE® Riediaci roztok1.
- Beckman Coulter IMMAGE® Zásobníky pre užívateľsky definované reagencie (UDR).
- Reagencia Beckman Coulter Immunoglobuline G (celkový IgG).

Upozornenie

Kalibrátory a kontroly sú tekuté ľudská séra. Aj keď je ľudská séra bola testovaná Pre markerov špecifických prenosu chorôb agentov v súlade s platnými smernicami EÚ GMP, a zistilo sa, že nereaktívny, všetky zložky ľudského pôvodu by mali byť považované za potenciálne infekčným materiálom. Odstránenie odpadu by mali byť vykonávané v súlade s vašou laboratóriu predpisy.

Nie je možné celkom vylúčiť prítomnosť infekčného agens.

Všetky zložky sú stabilné až do dátumu expirácie uvedenom na štítku, ak sú skladované pri teplote 2–8°C. Podmienky pre prepravu sa môžu líšiť od skladovacích podmienok. Latexové reagencie pre stanovenie IgG3 a IgG4 nezmrazujte.

Manipulácia so vzorkou

Testovať môžete vzorky séra a plazmy (s EDTA a heparínom sodným). Vzorky by mali byť čo najčerstvejšie alebo by mali byť skladované pri teplote 2–8°C. Pokiaľ vzorky nebudú analyzované do 1 týždňa, skladujte ich zmrazené pri teplote -18°C až -30°C. Takto zmrazené vzorky môžete uchovávať až 3 mesiace. Opakované zmrazovanie a rozmrazovanie môže viesť k znehodnoteniu analytu. Lipemické alebo zakalené vzorky musia byť pred stanovením zbavené zákalu odstredení. Vzorky, ktoré vyčistíte od zákalu, nepoužívajte. Vzorky pred použitím manuálne

neriedzte, pokiaľ nie je uvedené inak.

Postup testu

Latexové reagentie vyžadujú dodatočné premytie kyviet, ktoré uskutočnite výberom „Utilities“ (Pomocné postupy) v lište ponúk analyzátoru IMMAGE a potom zvolením možnosti 7: „Wash Cuvettes“ (Premyť kyvety). Kyvety premyte 1x pred testom s latexovými reagentiami a 1x po použití. V prípade, že sa za sebou uskutočňuje viac ako 39 testov s latexovými reagentiami, tento postup zopakujte.

- 1 Pred použitím vytemperujte všetky zložky súpravy a testované vzorky na izbovú teplotu (18–25°C) a jemne ich premiešajte. Vyvarujte sa tvorby bublín alebo peny.
- 2 Pripravte referenčné krivky pre podtriedy IgG pomocou kalibrátorov pripravených na použitie.
 - a) **V systéme IMMAGE®** môžete pre užívateľsky definované reagentie (UDR) zvoliť len pufof BUF10 a riediaci roztok DIL10. **Antiséra pre stanovenie IgG1 a IgG2 používajú pufof BUF1, zatiaľ čo latexové reagentie pre stanovenie IgG3 a IgG4 používajú pufof BUF3. Z tohto dôvodu tieto testy uskutočňujte po dávkach podľa používaného pufru. Pri prechode z antisér pre stanovenie IgG1 a IgG2 na latexové reagentie pre stanovenie IgG3 a IgG4 a naopak zmeňte pufof. Testy pre všetky štyri podtriedy používajú riediaci roztok DIL1. V systéme IMMAGE 800®** môžete pre užívateľsky definované reagentie voliť pufof spoločnosti Beckman.
 - b) Zadajte nižšie uvedené parametre pre protokoly stanovenia štyroch podtried IgG (pozri výstrahu (*) pod schémami). V systéme IMMAGE® BUF10 musíte z možností stavu reagentií zvoliť BUF10 a DIL10.
 - c) Zadajte koncentrácie kalibrátorov podtried IgG pripravených na použitie. Koncentrácie podtried IgG v rôznych kalibrátoroch sú zhrnuté v tabuľke 2 v priloženom informačnom letáku.
 - d) Označte štyri zásobníky na užívateľsky definované reagentie (UDR) a uistite sa pritom, že nezakrývajú čiarový kód UDR. Preneste antiséra a latexové reagentie z fľaštičiek do oddielov A ich príslušných zásobníkov a zakryte ich uzávermi proti odparovaniu. Zásobníky umiestnite do oddielov reagentií.
 - e) Do nádobiek na vzorky vložte kalibrátory, umiestnite ich do stojanov na vzorky a vložte do vzorkového karuselu. Poznámka: Pre stanovenie všetkých podtried IgG sa nepoužívajú všetky kalibračné séra (pozri tabuľku 2 v priloženom informačnom letáku). Poznámka: Pri spoločnom stanovení podtried IgG môžete sadu kalibrátorov vložiť štyrikrát do štyroch rôznych stojanov na vzorky alebo môžete uskutočniť kalibrácie za sebou.
 - f) Spustíte meranie referenčných kriviek. Referenčné krivky sú vypočítané v obrazovke schválenia kalibrácie s použitím polynomickej funkcie tretieho rádu.
 - g) Po schválení referenčných kriviek musíte v protokole testu zmeniť riedenie vzorky na špecifikované riedenie (pozri schémy).
 - h) Na kontrolu platnosti referenčných kriviek používajte kontrolné séra. Kontrolné séra analyzujte a vyhodnocujte rovnakým spôsobom ako testované vzorky. Referenčné krivky sú platné, ak sú hodnoty kontrol reprodukované v rámci svojich príslušných rozsahov uvedených v tabuľke 3 v priloženom informačnom letáku.
- 3 Vložte testované vzorky na stanovenie podtried IgG. Analyzujte vzorky. Systém testované vzorky automaticky nariadi podľa naprogramovaného riedenia. V prípade výsledkov nad hornou hranicou povoleného rozsahu (Out of Range High – ORHI) zopakujte stanovenie IgG2 s vyšším riedením vzorky (1:50) a stanovenie IgG1, IgG3 a IgG4 s manuálnym predriedením vzorky. Vzorky s výsledkom pod dolnou hranicou povoleného rozsahu (Out of Range Low – ORLO) v prípade IgG3 a IgG4 znovu zmerajte pri riedení vzorky 1:5. IgG1 a IgG2 pri nižšom riedení nemerajte.
- 4 Správnosť a presnosť stanovení podtried IgG môžete skontrolovať zopakovaním stanovenia podtried IgG v kontrolných sérach 1 a 2.
- 5 Reagentie po použití nenechávajte v analyzátofe IMMAGE® / IMMAGE 800®. Zásobníky tesne uzavrite šrubovacími uzávermi a uskladnite ich pri teplote 2–8°C.

Parametre stanovenia IgG1 v systéme IMAGE

INFORMÁCIE O PROTOKOLE			
Názov metódy:	IgG1	Jednotky:	g/L
Šarža reagencie:		Protokol:	Nekompetitívna nefelometria
Šarža zásobníka s reageniou:		Dátum expirácie reagenie:	
Sériové číslo zásobníka s reageniou:			
Pufor:	BUF10	Riediacci roztok:	DIL10
Objem vzorky alebo riedenia:	10 µL	Zosilnenie:	3
Objem reakčného pufru:	250 µL	Riedenie kalibrátora	1:8
Objem oddielu A:	40 µL	Riedenie vzorky:	1:50*
Objem oddielu B:	0 µL	Reakčný čas:	1,5 minúty
INFORMÁCIE O KALIBRÁCIÍ			
		<u>Hladina kalibrátora</u>	<u>Zadaná hodnota kalibrátora</u>
Hladiny:	6	Hladina 1 = Cal 2	
Replikáty:	1	Hladina 2 = Cal 3	
		Hladina 3 = Cal 4	
		Hladina 4 = Cal 5	
		Hladina 5 = Cal 6	
		Hladina 6 = Cal 7	

Parametre stanovenia IgG2 v systéme IMAGE

INFORMÁCIE O PROTOKOLE			
Názov metódy:	IgG2	Jednotky:	g/L
Šarža reagencie:		Protokol:	Nekompetitívna nefelometria
Šarža zásobníka s reageniou:		Dátum expirácie reagenie:	
Sériové číslo zásobníka s reageniou:			
Pufor:	BUF10	Riediacci roztok:	DIL10
Objem vzorky alebo riedenia:	30 µL	Zosilnenie:	3
Objem reakčného pufru:	240 µL	Riedenie kalibrátora	1:5
Objem oddielu A:	50 µL	Riedenie vzorky:	1:30*
Objem oddielu B:	0 µL	Reakčný čas:	2,5 minúty
INFORMÁCIE O KALIBRÁCIÍ			
		<u>Hladina kalibrátora</u>	<u>Zadaná hodnota kalibrátora</u>
Hladiny:	7	Hladina 1 = Cal 1	
Replikáty:	1	Hladina 2 = Cal 2	
		Hladina 3 = Cal 3	
		Hladina 4 = Cal 4	
		Hladina 5 = Cal 5	
		Hladina 6 = Cal 6	
		Hladina 7 = Cal 7	

Parametre stanovenia IgG3 v systéme IMAGE

INFORMÁCIE O PROTOKOLE			
Názov metódy:	IgG3 Latex	Jednotky:	g/L
Šarža reagencie:		Protokol:	Nekompetitívna NIPIA
Šarža zásobníka s reageniou:		Dátum expirácie reagenie:	
Sériové číslo zásobníka s reageniou:			
Pufor:	BUF10	Riediacci roztok:	DIL10
Objem vzorky alebo riedenia:	4 µL	Zosilnenie:	1
Objem reakčného pufru:	200 µL	Vypočítané riedenie	1:5
Objem oddielu A:	70 µL	Riedenie vzorky:	1:50*
Objem oddielu B:	0 µL	Reakčný čas:	1,5 minúty
INFORMÁCIE O KALIBRÁCIÍ			
		<u>Hladina kalibrátora</u>	<u>Zadaná hodnota kalibrátora</u>
Hladiny:	6	Hladina 1 = Cal 2	
Replikáty:	1	Hladina 2 = Cal 3	
		Hladina 3 = Cal 4	
		Hladina 4 = Cal 5	
		Hladina 5 = Cal 6	
		Hladina 6 = Cal 7	

Parametre stanovenia IgG4 v systéme IMAGE

INFORMÁCIE O PROTOKOLE			
Názov metódy:	IgG4 Latex	Jednotky:	g/L
Šarža reagencie:		Protokol:	Nekompetitívna NIPIA
Šarža zásobníka s reageniou:		Dátum expirácie reagenie:	
Sériové číslo zásobníka s reageniou:			
Pufor:	BUF10	Riediacci roztok:	DIL10
Objem vzorky alebo riedenia:	7 µL	Zosilnenie:	1
Objem reakčného pufru:	195 µL	Riedenie kalibrátora	1:5
Objem oddielu A:	70 µL	Riedenie vzorky:	1:50*
Objem oddielu B:	0 µL	Reakčný čas:	1,5 minúty
INFORMÁCIE O KALIBRÁCIÍ			
		<u>Hladina kalibrátora</u>	<u>Zadaná hodnota kalibrátora</u>
Hladiny:	7	Hladina 1 = Cal 1	
Replikáty:	1	Hladina 2 = Cal 2	
		Hladina 3 = Cal 3	
		Hladina 4 = Cal 4	
		Hladina 5 = Cal 5	
		Hladina 6 = Cal 6	
		Hladina 7 = Cal 7	

Parametre stanovenia IgG1 v systéme IMAGE 800

INFORMÁCIE O PROTOKOLE			
Názov metódy:	IgG1	Jednotky:	g/L
Šarža reagentov:		Protokol:	Nekompetitívna nefelometria
Šarža zásobníka s reagentmi:		Dátum expirácie reagentov:	
Sériové číslo zásobníka s reagentmi:		Počet testov na zásobník:	
Limit AGXS:		Aktivácia AGXS:	<input type="checkbox"/>
Pufor:	BUF1	Riediaca roztok:	DIL1
Objem vzorky alebo riedenia:	10 µL	Zosilnenie:	3
Objem reakčného pufu:	250 µL	Riedenie kalibrátora:	1:8
Objem oddielu A:	40 µL	Riedenie vzorky:	1:50*
Objem oddielu B:	0 µL	Reakčný čas:	1,5 minúty
INFORMÁCIE O KALIBRÁCIÍ			
		Hladina kalibrátora	Zadaná hodnota kalibrátora
Hladiny:	6	Hladina 1 = Cal 2	
Replikáty:	1	Hladina 2 = Cal 3	
		Hladina 3 = Cal 4	
Aktualizácia hladiny:	4**	Hladina 4 = Cal 5	
Replikáty:	1**	Hladina 5 = Cal 6	
		Hladina 6 = Cal 7	

Parametre stanovenia IgG2 v systéme IMAGE 800

INFORMÁCIE O PROTOKOLE			
Názov metódy:	IgG2	Jednotky:	g/L
Šarža reagentov:		Protokol:	Nekompetitívna nefelometria
Šarža zásobníka s reagentmi:		Dátum expirácie reagentov:	
Sériové číslo zásobníka s reagentmi:		Počet testov na zásobník:	
Limit AGXS:		Aktivácia AGXS:	<input type="checkbox"/>
Pufor:	BUF1	Riediaca roztok:	DIL1
Objem vzorky alebo riedenia:	30 µL	Zosilnenie:	3
Objem reakčného pufu:	240 µL	Riedenie kalibrátora:	1:5
Objem kazety A:	50 µL	Riedenie vzorky:	1:30*
Objem kazety B:	0 µL	Reakčný čas:	2,5 minúty
INFORMÁCIE O KALIBRÁCIÍ			
		Hladina kalibrátora	Zadaná hodnota kalibrátora
Hladiny:	7	Hladina 1 = Cal 1	
Replikáty:	1	Hladina 2 = Cal 2	
		Hladina 3 = Cal 3	
Aktualizácia hladiny:	4**	Hladina 4 = Cal 4	
Replikáty:	1**	Hladina 5 = Cal 5	
		Hladina 6 = Cal 6	
		Hladina 7 = Cal 7	

Parametre stanovenia IgG3 v systéme IMAGE 800

INFORMÁCIE O PROTOKOLE			
Názov metódy:	IgG3 Latex	Jednotky:	g/L
Šarža reagentov:		Protokol:	Nekompetitívna NIPIA
Šarža zásobníka s reagentmi:		Dátum expirácie reagentov:	
Sériové číslo zásobníka s reagentmi:		Počet testov na zásobník:	
Limit AGXS:		Aktivácia AGXS:	<input type="checkbox"/>
Pufor:	BUF3	Riediaca roztok:	DIL1
Objem vzorky alebo riedenia:	4 µL	Zosilnenie:	1
Objem reakčného pufu:	200 µL	Riedenie kalibrátora:	1:5
Objem kazety A:	70 µL	Riedenie vzorky:	1:50*
Objem kazety B:	0 µL	Reakčný čas:	1,5 minúty
INFORMÁCIE O KALIBRÁCIÍ			
		Hladina kalibrátora	Zadaná hodnota kalibrátora
Hladiny:	6	Hladina 1 = Cal 2	
Replikáty:	1	Hladina 2 = Cal 3	
		Hladina 3 = Cal 4	
Aktualizácia hladiny:	4**	Hladina 4 = Cal 5	
Replikáty:	1**	Hladina 5 = Cal 6	
		Hladina 6 = Cal 7	

Parametre stanovenia IgG4 v systéme IMAGE 800

INFORMÁCIE O PROTOKOLE			
Názov metódy:	IgG4 Latex	Jednotky:	g/L
Šarža reagentov:		Protokol:	Nekompetitívna NIPIA
Šarža zásobníka s reagentmi:		Dátum expirácie reagentov:	
Sériové číslo zásobníka s reagentmi:		Počet testov na zásobník:	
Limit AGXS:		Aktivácia AGXS:	<input type="checkbox"/>
Pufor:	BUF3	Riediaca roztok:	DIL1
Objem vzorky alebo riedenia:	7 µL	Zosilnenie:	1
Objem reakčného pufu:	195 µL	Riedenie kalibrátora:	1:5
Objem kazety A:	70 µL	Riedenie vzorky:	1:50*
Objem kazety B:	0 µL	Reakčný čas:	1,5 minúty
INFORMÁCIE O KALIBRÁCIÍ			
		Hladina kalibrátora	Zadaná hodnota kalibrátora
Hladiny:	7	Hladina 1 = Cal 1	
Replikáty:	1	Hladina 2 = Cal 2	
		Hladina 3 = Cal 3	
Aktualizácia hladiny:	4**	Hladina 4 = Cal 4	
Replikáty:	1**	Hladina 5 = Cal 5	
		Hladina 6 = Cal 6	
		Hladina 7 = Cal 7	

- * Pri prvom použití zásobníku UDR sa v poli „Sample Dilution“ (Riedenie vzorky) automaticky zobrazí rovnaká hodnota ako v poli „Cal Dilution“ (Riedenie kalibrátora). Ak chcete vzorku analyzovať pri inom riedení, než je riedenie kalibrátora, musí byť metóda najprv kalibrovaná a schválená. Až potom môžete zadať uvedené riedenie vzorky.
- ** Pretože táto súprava nebola vyvinutá pre jednobodovú kalibráciu, užívatelia by VŽDY mali spracovať celú kalibračnú krivku.

Interpretácia

1. Systém vypočíta výsledky automaticky.
2. Koncentrácie podtried IgG v kontrolných sérach by sa mali nachádzať v rozmedzí uvedenom v tabuľke 3 v priloženom informačnom letáku. Ak je niektorý výsledok mimo rozsah uvedený v tabuľke 3, špecifickú kontrolu znovu zmerajte s použitím nového riedenia. Ak sa odchýlený výsledok potvrdí, vytvorte novú referenčnú krivku. V prípade neplatných výsledkov kontrol nezverejňujte výsledky pacienta.
3. Za účelom overenia možného nadbytku antigénu vypočítajte súčet všetkých štyroch podtried IgG a porovnajte ich s celkovou koncentráciou IgG nameranou pomocou reagentov s protilátkou proti IgG. Súčet všetkých štyroch podtried IgG by sa mal rovnáť celkovému IgG $\pm 15\%$. Ak je súčet všetkých podtried odlišný od hodnoty celkového IgG o viac ako 15%, musíte analýzu zopakovať s použitím iných riedení.
4. Pre hodnotenie koncentrácií podtried IgG v testovanej vzorke porovnajte zistené hladiny s normálnymi hodnotami podtried IgG (pozri časť, **Referenčné rozsahy**).

Rozsahy stanovenia

Rozsahy merania a citlivosť závisia od koncentrácií analytov v kalibrátore. Rozsahy stanovenia špecifické pre súpravu sú uvedené v tabuľke 2 v priloženom informačnom letáku.

Podtrieda IgG	Približný počiatočný rozsah merania		Približná citlivosť	
	Koncentrácia (g/L)	Riedenie vzorky	Koncentrácia (g/L)	Riedenie vzorky
IgG1	0,80 – 13,2	1:50	0,80	1:50
IgG2	0,24 – 6,90	1:30	0,24	1:30
IgG3	0,09 – 1,45	1:50	0,009	1:5
IgG4	0,06 – 1,73	1:50	0,006	1:5

Referenčné rozsahy

Referenčné rozsahy (g/L) pre podtriedy IgG vo vzorkách séra zdravých jedincov bielej etnickej rasy (interné dáta spoločnosti Sanquin, 10, 12). Pre iné populácie musíte získať samostatné referenčné rozsahy.

Vek	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
1 - 6 mes.	1,8 - 7,0	0,34 - 2,1	0,14 - 0,80	0,017 - 0,36
6 - 12 mes.	2,0 - 7,7	0,34 - 2,3	0,15 - 0,97	0,012 - 0,43
1 - 1 ½ roky	2,5 - 8,2	0,38 - 2,4	0,15 - 1,07	0,011 - 0,62
1 ½ - 2 roky	2,9 - 8,5	0,45 - 2,6	0,15 - 1,13	0,011 - 0,79
2 - 3 roky	3,2 - 9,0	0,52 - 2,8	0,14 - 1,20	0,012 - 1,06
3 - 4 roky	3,5 - 9,4	0,63 - 3,0	0,13 - 1,26	0,015 - 1,27
4 - 6 roky	3,7 - 10,0	0,72 - 3,4	0,13 - 1,33	0,017 - 1,58
6 - 9 roky	4,0 - 10,8	0,85 - 4,1	0,13 - 1,42	0,023 - 1,89
9 - 12 roky	4,0 - 11,5	0,98 - 4,8	0,15 - 1,49	0,030 - 2,10
12 - 18 roky	3,7 - 12,8	1,06 - 6,1	0,18 - 1,63	0,035 - 2,30
> 18 roky	4,9 - 11,4	1,50 - 6,4	0,20 - 1,10	0,080 - 1,40

Špecifikácie

a. Reprodukovateľnosť

		Presnosť v rámci série testov				Presnosť medzi sériami testov				Celková presnosť			
		sérum 1	sérum 2	sérum 3	sérum 4	sérum 1	sérum 2	sérum 3	sérum 4	sérum 1	sérum 2	sérum 3	sérum 4
IgG1	Konc. (g/L)	1,03	3,33	6,14	10,5	1,02	3,43	6,25	10,5	1,04	3,53	6,40	10,7
	VK (%)	2,4	1,5	1,2	1,0	2,8	2,8	3,2	2,4	3,2	3,2	3,3	2,4
	n	10	10	10	10	20	20	20	20	80	80	80	80
	dní	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	série									2	2	2	2
IgG2	Konc. (g/L)	0,262	1,95	3,48	5,92	0,249	1,96	3,53	5,69	0,244	2,00	3,56	5,73
	VK (%)	2,5	1,1	1,1	5,1	4,6	2,6	3,2	3,9	5,6	3,0	2,9	4,9
	n	10	10	10	10	20	20	20	20	79	80	80	77
	dní	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	série									1	1	1	1
IgG3	Konc. (g/L)	0,124	0,245	0,456	1,30	0,128	0,241	0,442	1,24	0,130	0,244	0,441	1,24
	VK (%)	4,8	1,5	1,4	1,6	5,0	3,8	3,5	3,9	6,5	5,1	3,7	3,1
	n	10	10	10	10	20	20	20	20	98	98	98	98
	dní	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	série									3	3	3	3
IgG4	Konc. (g/L)	0,071	0,302	0,539	1,37	0,086	0,315	0,557	1,58	0,080	0,320	0,561	1,47
	VK (%)	6,3	1,4	1,8	4,3	6,5	2,5	2,9	3,9	11,8	4,7	4,6	8,1
	n	10	10	10	10	20	20	20	20	100	100	100	98
	dní	1	1	1	1	5	5	5	5	15	15	15	15
	série									3	3	3	3

Bola použitá smernica CLSI/NCCLS EP5-A2.

b. Porovnanie súpravy PeliClass™ human IgG subclass so súpravou PeliClass™ human IgG subclass Plus (x versus y)

Koncentrácie IgG1, IgG2, IgG3 a IgG4 stanovené v sérach s použitím tejto súpravy boli porovnané so zodpovedajúcimi hodnotami zistenými s použitím súpravy PeliClass human IgG subclass (katalóg. č. M1775). Na porovnanie bola použitá metóda Passing-Bablokovej regresie. Bola použitá smernica CLSI/NCCLS-EP9-A2. Boli zistené nasledujúce korelácie:

Podtrieda IgG	Smernica	Interval spoľahlivosti	Úsek na osi y (g/L)	Interval spoľahlivosti	n	Korelácia
IgG1	0,96	0,96 - 0,96	0,18	0,15 - 0,21	100	1,00
IgG2	0,97	0,96 - 0,99	0,07	0,03 - 0,10	100	0,99
IgG3	0,91	0,86 - 0,96	0,041	0,024 - 0,058	97	0,98
IgG4	0,86	0,83 - 0,88	0,031	0,015 - 0,055	94	0,99
Celkom	1,01	1,00 - 1,03	0,06	-0,08 - 0,21	95	1,00

c. Variácie medzi šaržami súpravy PeliClass™ human IgG subclass Plus

Koncentrácie IgG1, IgG2, IgG3 a IgG4 v sérach boli stanovené s použitím rôznych šarží reagensí. Na porovnanie bola použitá metóda Passing-Bablokovej regresie. Bola použitá smernica CLSI/NCCLS-EP9-A2. Boli zistené nasledujúce korelácie:

Podtrieda IgG	Smernica	Interval spoľahlivosti	Úsek na osi y (g/L)	Interval spoľahlivosti	n	Korelácia
IgG1	1,01	0,98 – 1,04	-0,03	-0,25 – 0,20	76	0,99
IgG2	1,01	0,99 – 1,03	-0,05	-0,11 – -0,01	77	1,00
IgG3	1,03	1,01 – 1,04	0,001	-0,003 – 0,007	128	1,00
IgG4	1,02	1,01 – 1,03	-0,009	-0,011 – -0,006	115	1,00

d. Súčet podtried oproti celkovému IgG

$y = 1,07x - 0,15$ (g/L), kde x = celkový IgG a y = súčet podtried.
Korelačný koeficient = 0,991 a $n = 38$.

e. Interferencie

Interferencia pri stanovení podtried IgG bola testovaná pomocou smernice CLSI/NCCLS EP7-A2.

Boli testované nasledujúce látky v nižšie uvedených koncentráciách a ich vplyv bol nižší ako 10 %. Pri každej podtriede IgG boli testované dve koncentrácie. IgG1 2,6 – 6,4 g/L, IgG2 1,6 – 3,6 g/L, IgG3 0,188 – 0,423 g/L a IgG4 0,277 – 0,552 g/L.

Látka	Testovaná koncentrácia
Albumín	60 g/L
Bilirubín (konjugovaný)	20 mg/dL
Bilirubín (nekonjugovaný)	20 mg/dL
Hemoglobín	2 g/L
Reumatoidný faktor	50 IU/mL
Triglyceridy	37 mmol/L*

*: Pri stanovení IgG1, IgG3 a IgG4 sa neprejavili interferencie triglyceridov. U IgG2 nebola zistená žiadna interferencia až po odstredení vzorky.

Poznámka:

Hodnoty uvádzané ako špecifické výkonnostné charakteristiky stanovenia predstavujú typické výsledky a nemali by sa považovať za špecifikácie tejto súpravy.

Obmedzenia

1. Používateľ by mal byť zaškolený a oboznámený s postupom používania užívateľsky definovaných reagensí v prístroji a postupom testu.
2. Pri vzorkách obsahujúce látky uvedené v časti **Špecifikácie** e vo vyšších hladinách, ako bolo testované, a pri vzorkách obsahujúcich monoklonálne imunoglobulíny alebo cirkulujúce imunokomplexy môžete získať neočakávané výsledky. Tieto vzorky analyzujte inou metódou.
3. Dbajte na to, aby údržba prístroja prebiehala v súlade s návodom. Používajte len plne vybavený prístroj.
4. Zistenie znížených hladín jednej z podtried IgG nikdy nemôže poskytnúť definitívnu diagnózu, ale malo by byť považované skôr za indikáciu poruchu imunitného systému vyžadujúcu ďalšie diagnostické vyšetrenia.
5. Referenčné krivky síce zostávajú stabilné 1 mesiac, ale pre kontrolu platnosti referenčných kriviek vždy použite kontrolné séra. Keď je niektorá kontrola mimo dané rozmedzie, musí byť vytvorená nová referenčná krivka.
6. Pri použití novej šarže musí byť vytvorená nová referenčná krivka.
7. Žiaden materiál nepoužívajte po uplynutí dátumu expirácie uvedenom na štítku.
8. Reagencie s rôznym číslom šarže nie sú zameniteľné.
9. Nemiešajte žiadne zbytky reagensí (napr. mŕtve objemy) s obsahom čerstvo otvorených fľaštičiek.
10. Nie je možné zamieňať uzávery rôznych fľaštičiek. Uzávery musíte vrátiť na príslušné fľaštičky.
11. Na kontrolu možného prebytku antigénu vždy stanovte celkový IgG a porovnajte ho so súčtom podtried.
12. Zložky súpravy nepoužívajte v iných prístrojoch, ako je uvedené na štítkoch.
13. Nepoužívajte iné nastavenia prístroja, ako je uvedené.

Literatúra

1. Shakib F. (Volume editor) Basic and Clinical Aspects of IgG Subclasses (Monographs in Allergy 19) Karger (1986).
2. Shakib F. (Editor) The human IgG subclasses Pergamon Press (1990).
3. Vlug A. et al. Eur. Clin. Lab. 8: 26 (1989).
4. Jefferis R. and Kumararatne D.S. Clin. Exp. Immunol. 81: 357 (1990).
5. Hamilton R.C. Clin. Chem. 33: 1707 (1987).
6. Vries E. de et al. Clin. Exp. Immunol. 145: 204 (2006).
7. Beck C.S. and Heiner D.C. Am. Rev. Respir. Dis. 124: 94 (1981).
8. Giessen M. et al. Immunology 27: 655 (1974).
9. Goossen P.C.M. et al. J. Immunol. Methods 40: 339 (1981).
10. Vlug A. et al. Ann. Biol. Clin. 52: 561 (1994).
11. Klein F. et al. Clin. Chem. Acta. 150: 119 (1985).
12. Lepage N. et al. Clin. Biochem. 43: 694 (2010).

Sanquin zaručuje, že funkčné charakteristiky jej výrobkov zodpovedajú popisu v pôvodnom návode na použitie od výrobcu. Je nevyhnutné presne dodržiavať postupy, rozvrhnutie testov a odporúčania ohľadom činidiel a vybavenia. Nadácia Sanquin sa zrieka akejkoľvek zodpovednosti v prípade akýchkoľvek odchýlok od týchto postupov, rozvrhnutí a odporúčaní.