

# 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

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

301\_v03 06/2018 (cs)

*Pouze pro profesionální použití*

- Souprava pro kvantitativní stanovení podtříd lidského IgG v séru a plazmě na analyzátoch Beckman IMMAGE® / IMMAGE 800®

CAL	CONTROL	NEPH	NEPH/NIPIA	NIPIA	ORG	≥≤
Kalibrátor	Kontrola	Nefelometrie	Nefelometrie/NIPIA	NIPIA	Původ	Rozsah

## Všeobecné informace

Lidský IgG zahrnuje čtyři podtřídy: IgG1, IgG2, IgG3 a IgG4. Biochemické charakteristiky podtříd IgG byly rozsáhle popsány (1-5). Rozdíly mezi podtřídami IgG se odrážejí v několika biologicky důležitých funkcích, jakými jsou rozpoznávání antigenů, aktivace komplementu a vazba na povrchové buněčné receptory. Řada studií odhalila, že abnormální sérové hladiny podtříd IgG mohou souviset s různými onemocněními (6). Rozsáhle zdokumentována je zvláště spojitost selektivního nedostatku podtřídy IgG2 se zvýšenou náchylností k virovým nebo bakteriálním infekcím (4, 5). Nízké sérové hladiny IgG2 nebo IgG3 byly popsány u pacientů s opakovaně se vyskytujícími infekcemi horních a dolních cest dýchacích. Jiní našli souvislost mezi velmi nízkou sérovou koncentrací IgG4 a opakovaně se vyskytujícími sinopulmonálními infekcemi (7). Abnormální sérové hladiny podtříd IgG byly rovněž pozorovány u autoimunitních onemocnění, neurologických poruch a infekcí virem HIV (4, 6).

## Princip testu

Souprava PeliClass™ human IgG subclass **Plus** je určena k rychlému, reprodukovatelnému a specifickému kvantitativnímu stanovení podtříd lidského IgG (IgG1, IgG2, IgG3 a IgG4). Nefelometrické stanovení IgG1 a IgG2 v séru je založeno na specifické reakci s monospecifickým, vysoce avidním antisérem proti podtřídám IgG. Turbidimetrické stanovení IgG3 a IgG4 v séru je pro dosažení vyšší analytické citlivosti založeno na specifické reakci s latexovým činidlem potaženým monospecifickými, vysoce avidními protilátkami proti podtřídám IgG. Séra s frakcionovanými ovčími protilátkami proti podtřídám lidského IgG se vyrábějí jako specifická pomocí absorpce s izolovanými gamaglobuliny nežádoucích podtříd IgG a v případě potřeby pomocí absorpce s izolovanými sérovými frakcemi (8-10). Polyklonální reagentie v této soupravě jsou specifické pro podtřídy lidského IgG a byly vybrány pro vysokou aviditu. Nefelometrické a turbidimetrické kvantitativní stanovení jsou založena na tvorbě imunokomplexů, která je kvantitativně vyjádřena pomocí měření rozptýleného světla u nefelometrie a procházejícího světla v případě turbidimetrie. Koncentrace podtříd IgG v měřených vzorcích se stanoví porovnáním s referenční křivkou získanou pomocí dodaných kalibrátorů podtříd IgG. Pro kontrolu platnosti referenčních křivek a správnosti stanovení podtříd IgG jsou analyzována kontrolní séra s podtřídami IgG. Hladiny podtříd IgG v kalibrátorech byly stanoveny za použití materiálu ERM-DA470 jakožto kalibrátoru. Přiřazené hodnoty jsou 6,210 g/l pro IgG1, 3,450 g/l pro IgG2, 0,390 g/l pro IgG3 a 0,591 g/l pro IgG4 a jsou odvozeny z WHO 67/97 (11).

## Skladování a stabilita

Všechny složky jsou stabilní až do data expirace uvedeného na štítku, jsou-li skladovány při 2–8 °C. Podmínky pro přepravu se mohou lišit od skladovacích podmínek. Latexové reagentie pro stanovení IgG3 a IgG4 nezmrazujte. Po otevření jsou složky skladovány při 2–8 °C stabilní 1 měsíc; musí být ale vzato do úvahy datum expirace uvedené na štítku. Po dokončení každodenní pracovní náplně složky opět uskladněte při teplotě 2–8 °C. Před uskladněním zásobníků reagentie na ně opět nasadte uzávěry proti odpařování se šroubovacími uzávěry. Kalibrační křivky jsou stabilní nejméně 1 měsíc, ale pro kontrolu platnosti kalibračních křivek by měla být vždy používána kontrolní séra.

## Obsah balení

Souprava PeliClass™ human IgG subclass **Plus** umožňuje kvantitativní stanovení čtyř podtříd lidského IgG v 50 testech včetně kalibrátorů a kontrol. Všechny složky uvedené na první straně této příbalové informace lze objednat samostatně.

Ovčí protilátky proti lidskému IgG1	1x 2.4 mL	<b>REF</b> M1891
Ovčí protilátky proti lidskému IgG2	1x 2.9 mL	<b>REF</b> M1892
Latexem obohacené ovčí protilátky proti lidskému IgG3	1x 4.0 mL	<b>REF</b> M1893
Latexem obohacené ovčí protilátky proti lidskému IgG4	1x 4.0 mL	<b>REF</b> M1894
Sada kalibrátorů podtříd lidského IgG	7x 1.0 mL	<b>REF</b> M1896
Kontrola 1 pro podtřídy lidského IgG	1x 1.0 mL	<b>REF</b> M1897
Kontrola 2 pro podtřídy lidského IgG	1x 1.0 mL	<b>REF</b> M1898

Antiséra pro stanovení IgG1 a IgG2 jsou specifická kapalná ovčí séra.

Latexové reagentie pro stanovení IgG3 a IgG4 představují suspenzi polystyrenových částic potažených specifickými ovčími protilátkami.

Kalibrátory a kontroly jsou kapalná lidská séra. Konzervační látka: NaNO<sub>3</sub> 0,1 % (hmotnost/objem).

## Další materiály nebo zařízení

- Imunochemický systém Beckman Coulter IMMAGE® / IMMAGE 800®
- Pufr Beckman Coulter IMMAGE® Buffer1
- Pufr Beckman Coulter IMMAGE® Buffer3
- Ředící roztok Beckman Coulter IMMAGE® Diluent1
- Zásobníky pro uživatelsky definované reagentie (UDR) pro systém Beckman Coulter IMMAGE®
- Reagentie Beckman Coulter Immunoglobuline G (celkový IgG)

## Upozornění

Kalibrátory a kontroly jsou kapalná lidská séra. Přestože lidská séra byla testována na markery zárodků přenášejících specifická onemocnění v souladu s aktuálními směrnici EU pro správnou výrobní praxi (GMP) a shledána nereaktivními, všechny složky lidského původu by měly být pokládány za potenciálně infekční. Likvidaci odpadu je třeba provádět podle předpisů vaší laboratoře.

U diagnostik nelze zcela vyloučit přítomnost infekčního agens.

Všechny složky jsou stabilní až do data expirace uvedeného na štítku, jsou-li skladovány při 2–8 °C. Podmínky pro přepravu se mohou lišit od skladovacích podmínek. Latexové reagentie pro stanovení IgG3 a IgG4 nezmrazujte.

## Manipulace se vzorky

Lze testovat vzorky séra a plazmy (s EDTA a sodnou solí heparinu). Vzorky by měly být co nejčerstvější nebo by měly být skladovány při 2–8 °C. Pokud vzorky nebudou analyzovány do 1 týdne, měly by být skladovány zmrazené při -18 °C až -30 °C. Takto zmrazené vzorky lze uchovávat až 3 měsíce. Opakované zmrazování a rozmrazování může vést ke znehodnocení analytu. Lipemické nebo zakalené vzorky musejí být před stanovením zbaveny zákalu odstředěním. Vzorky, které nelze zbavit zákalu, by neměly být použity. Vzorky by před použitím neměly být manuálně ředěny, pokud není uvedeno jinak.

## Postup testu

**Latexové reagencie vyžadují mimořádné promytí kyvet,** které se provádí volbou „Utilities“ (Pomocné postupy) v liště nabídek analyzátoru IMMAGE a poté zvolením možnosti 7: „Wash Cuvettes“ (Promýt kyvety). Kyvety promyjte 1x před testem s latexovými reagencemi a 1x po použití. V případě, že se provádí za sebou více než 39 testů s latexovými reagencemi, tento postup zopakujte.

- 1 Před použitím vytemperujte všechny složky soupravy a testované vzorky na pokojovou teplotu (18–25 °C) a jemně je promíchejte. Vyvarujte se tvorby bublin nebo pěny.
- 2 Připravte referenční křivky pro podtřídy IgG pomocí kalibrátorů připravených k použití.
  - a) **U systému IMMAGE® lze pro uživatelsky definované reagencie (UDR) zvolit pouze pufr BUF10 a ředidlo DIL10. Antiséra pro stanovení IgG1 a IgG2 používají pufr BUF1, zatímco latexové reagencie pro stanovení IgG3 a IgG4 používají pufr BUF3. Proto by tyto testy měly být prováděny po dávkách podle používaného pufru. Při přechodu z antisér pro stanovení IgG1 a IgG2 na latexové reagencie pro stanovení IgG3 a IgG4 a naopak změňte pufr. Testy na všechny čtyři podtřídy používají ředidlo DIL1. U systému IMMAGE 800® lze pro uživatelsky definované reagencie volit pufr Beckman.**
  - b) Zadejte níže uvedené parametry pro protokoly stanovení čtyř podtříd IgG (viz varování (\*) pod schémata). U systému IMMAGE® je třeba z voleb stavu reagií zvolit BUF10 a DIL10.
  - c) Zadejte koncentrace kalibrátorů podtříd IgG připravených k použití. Koncentrace podtříd IgG v různých kalibrátorech jsou shrnuty v tabulce 2 příloženého informačního letáku.
  - d) Označte čtyři zásobníky na uživatelsky definované reagencie (UDR) a ujistěte se přitom, že není zakryt čárový kód UDR. Přeneste antiséra a latexové reagencie z lahvíček do oddílů A jejich příslušných zásobníků a zakryjte je uzávěry proti odpařování. Zásobníky umístěte do oddílu reagií.
  - e) Do nádobek na vzorky vložte kalibrátory, umístěte je do stojáneků na vzorky a vložte do vzorkového karuselu. Poznámka: Pro stanovení všech podtříd IgG se nepoužívají všechna kalibrační séra (viz tabulka 2 příloženého informačního letáku). Pozn.: Při provádění stanovení podtříd IgG společně lze sadu kalibrátorů vložit čtyřikrát do čtyř různých stojáneků na vzorky nebo lze kalibrace provést za sebou.
  - f) Spusťte měření referenčních křivek. Referenční křivky jsou vypočteny v obrazovce schválení kalibrace za použití polynomické funkce třetího řádu.
  - g) Po schválení referenčních křivek musí být v protokolu stanovení změněno ředění vzorku na specifikované ředění (viz schémata).
  - h) Používejte kontrolní séra pro kontrolu platnosti referenčních křivek. Kontrolní séra by měla být analyzována a hodnocena stejným způsobem jako testované vzorky. Referenční křivky jsou platné, pokud jsou hodnoty kontrol reprodukovány v rámci svých příslušných rozsahů uvedených v tabulce 3 příloženého informačního letáku.
- 3 Vložte testované vzorky ke stanovení podtříd IgG. Analyzujte vzorky. Systém testované vzorky automaticky nařadí podle naprogramovaného ředění. V případě výsledků nad horní mezí povoleného rozsahu (Out of Range High – ORHI) by stanovení IgG2 mělo být zopakováno s vyšším ředěním vzorku (1:50), případně stanovení IgG1, IgG3 a IgG4 s manuálním předředěním vzorku. Vzorky s výsledkem pod dolní mezí povoleného rozsahu (Out of Range Low – ORLO) by měly být v případě IgG3 a IgG4 změřeny znovu při ředění vzorku 1:5. IgG1 a IgG2 při nižším ředění nemějte.
- 4 Správnost a přesnost stanovení podtříd IgG lze zkontrolovat zopakováním stanovení podtříd IgG v kontrolních sérech 1 a 2.
- 5 Reagencie by po použití neměly být ponechány v analyzátoru IMMAGE® / IMMAGE 800®. Zásobníky těsně uzavřete šroubovacími uzávěry a uskladněte je při 2–8 °C.

### Parametry stanovení IgG1 na systému IMAGE

ÚDAJE PROTOKOLU			
Název metody:	<b>IgG1</b>	Jednotky:	<b>g/l</b>
Šarže reagensie:		Protokol:	<b>Nekompetitivní nefelometrie</b>
Šarže zásobníku reagensie:		Datum expirace reagensie:	
Sériové č. zásobníku reagensie:			
Pufr:	<b>BUF10</b>	Ředidlo:	<b>DIL10</b>
Objem vzorku nebo ředění:	<b>10 µl</b>	Zesílení:	<b>3</b>
Objem reakčního pufru:	<b>250 µl</b>	Ředění kalibrátoru:	<b>1:8</b>
Objem oddílu A:	<b>40 µl</b>	Ředění vzorku:	<b>1:50*</b>
Objem oddílu B:	<b>0 µl</b>	Reakční čas:	<b>1,5 minuty</b>
INFORMACE O KALIBRACI			
		<u>Hladina kalibrátoru</u>	<u>Zadaná hodnota kalibrátoru</u>
Hladiny:	<b>6</b>	Hladina 1 = Cal 2	
Počet opakování:	<b>1</b>	Hladina 2 = Cal 3	
		Hladina 3 = Cal 4	
		Hladina 4 = Cal 5	
		Hladina 5 = Cal 6	
		Hladina 6 = Cal 7	

### Parametry stanovení IgG2 na systému IMAGE

ÚDAJE PROTOKOLU			
Název metody:	<b>IgG2</b>	Jednotky:	<b>g/l</b>
Šarže reagensie:		Protokol:	<b>Nekompetitivní nefelometrie</b>
Šarže zásobníku reagensie:		Datum expirace reagensie:	
Sériové č. zásobníku reagensie:			
Pufr:	<b>BUF10</b>	Ředidlo:	<b>DIL10</b>
Objem vzorku nebo ředění:	<b>30 µl</b>	Zesílení:	<b>3</b>
Objem reakčního pufru:	<b>240 µl</b>	Ředění kalibrátoru:	<b>1:5</b>
Objem oddílu A:	<b>50 µl</b>	Ředění vzorku:	<b>1:30*</b>
Objem oddílu B:	<b>0 µl</b>	Reakční čas:	<b>2,5 minuty</b>
INFORMACE O KALIBRACI			
		<u>Hladina kalibrátoru</u>	<u>Zadaná hodnota kalibrátoru</u>
Hladiny:	<b>7</b>	Hladina 1 = Cal 1	
Počet opakování:	<b>1</b>	Hladina 2 = Cal 2	
		Hladina 3 = Cal 3	
		Hladina 4 = Cal 4	
		Hladina 5 = Cal 5	
		Hladina 6 = Cal 6	
		Hladina 7 = Cal 7	

### Parametry stanovení IgG3 na systému IMAGE

ÚDAJE PROTOKOLU			
Název metody:	<b>IgG3 Latex</b>	Jednotky:	<b>g/l</b>
Šarže reagensie:		Protokol:	<b>Nekompetitivní NIPIA</b>
Šarže zásobníku reagensie:		Datum expirace reagensie:	
Sériové č. zásobníku reagensie:			
Pufr:	<b>BUF10</b>	Ředidlo:	<b>DIL10</b>
Objem vzorku nebo ředění:	<b>4 µl</b>	Zesílení:	<b>1</b>
Objem reakčního pufru:	<b>200 µl</b>	Ředění kalibrátoru:	<b>1:5</b>
Objem oddílu A:	<b>70 µl</b>	Ředění vzorku:	<b>1:50*</b>
Objem oddílu B:	<b>0 µl</b>	Reakční čas:	<b>1,5 minuty</b>
INFORMACE O KALIBRACI			
		<u>Hladina kalibrátoru</u>	<u>Zadaná hodnota kalibrátoru</u>
Hladiny:	<b>6</b>	Hladina 1 = Cal 2	
Počet opakování:	<b>1</b>	Hladina 2 = Cal 3	
		Hladina 3 = Cal 4	
		Hladina 4 = Cal 5	
		Hladina 5 = Cal 6	
		Hladina 6 = Cal 7	

### Parametry stanovení IgG4 na systému IMAGE

ÚDAJE PROTOKOLU			
Název metody:	<b>IgG4 Latex</b>	Jednotky:	<b>g/l</b>
Šarže reagensie:		Protokol:	<b>Nekompetitivní NIPIA</b>
Šarže zásobníku reagensie:		Datum expirace reagensie:	
Sériové č. zásobníku reagensie:			
Pufr:	<b>BUF10</b>	Ředidlo:	<b>DIL10</b>
Objem vzorku nebo ředění:	<b>7 µl</b>	Zesílení:	<b>1</b>
Objem reakčního pufru:	<b>195 µl</b>	Ředění kalibrátoru:	<b>1:5</b>
Objem oddílu A:	<b>70 µl</b>	Ředění vzorku:	<b>1:50*</b>
Objem oddílu B:	<b>0 µl</b>	Reakční čas:	<b>1,5 minuty</b>
INFORMACE O KALIBRACI			
		<u>Hladina kalibrátoru</u>	<u>Zadaná hodnota kalibrátoru</u>
Hladiny:	<b>7</b>	Hladina 1 = Cal 1	
Počet opakování:	<b>1</b>	Hladina 2 = Cal 2	
		Hladina 3 = Cal 3	
		Hladina 4 = Cal 4	
		Hladina 5 = Cal 5	
		Hladina 6 = Cal 6	
		Hladina 7 = Cal 7	

### Parametry stanovení IgG1 na systému IMAGE 800

ÚDAJE PROTOKOLU			
Název metody:	<b>IgG1</b>	Jednotky:	<b>g/l</b>
Šarže reagensie:		Protokol:	<b>Nekompetitivní nefelometrie</b>
Šarže zásobníku reagensie:		Datum expirace reagensie:	
Sériové č. zásobníku reagensie:		Počet testů v zásobníku:	
Limit AGXS:		Aktivace AGXS:	<input type="checkbox"/>
Pufr:	<b>BUF1</b>	Ředidlo:	<b>DIL1</b>
Objem vzorku nebo ředění:	<b>10 µl</b>	Zesílení:	<b>3</b>
Objem reakčního pufru:	<b>250 µl</b>	Ředění kalibrátoru:	<b>1:8</b>
Objem oddílu A:	<b>40 µl</b>	Ředění vzorku:	<b>1:50*</b>
Objem oddílu B:	<b>0 µl</b>	Reakční čas:	<b>1,5 minuty</b>
INFORMACE O KALIBRACI			
		Hladina kalibrátoru	<u>Zadaná hodnota kalibrátoru</u>
Hladiny:	<b>6</b>	Hladina 1 = Cal 2	
Počet opakování:	<b>1</b>	Hladina 2 = Cal 3	
Aktualizace hladiny:	<b>4**</b>	Hladina 3 = Cal 4	
Počet opakování:	<b>1**</b>	Hladina 4 = Cal 5	
		Hladina 5 = Cal 6	
		Hladina 6 = Cal 7	

### Parametry stanovení IgG2 na systému IMAGE 800

ÚDAJE PROTOKOLU			
Název metody:	<b>IgG2</b>	Jednotky:	<b>g/l</b>
Šarže reagensie:		Protokol:	<b>Nekompetitivní nefelometrie</b>
Šarže zásobníku reagensie:		Datum expirace reagensie:	
Sériové č. zásobníku reagensie:		Počet testů v zásobníku:	
Limit AGXS:		Aktivace AGXS:	<input type="checkbox"/>
Pufr:	<b>BUF1</b>	Ředidlo:	<b>DIL1</b>
Objem vzorku nebo ředění:	<b>30 µl</b>	Zesílení:	<b>3</b>
Objem reakčního pufru:	<b>240 µl</b>	Ředění kalibrátoru:	<b>1:5</b>
Objem oddílu A:	<b>50 µl</b>	Ředění vzorku:	<b>1:30*</b>
Objem oddílu B:	<b>0 µl</b>	Reakční čas:	<b>2,5 minuty</b>
INFORMACE O KALIBRACI			
		Hladina kalibrátoru	<u>Zadaná hodnota kalibrátoru</u>
Hladiny:	<b>7</b>	Hladina 1 = Cal 1	
Počet opakování:	<b>1</b>	Hladina 2 = Cal 2	
Aktualizace hladiny:	<b>4**</b>	Hladina 3 = Cal 3	
Počet opakování:	<b>1**</b>	Hladina 4 = Cal 4	
		Hladina 5 = Cal 5	
		Hladina 6 = Cal 6	
		Hladina 7 = Cal 7	

### Parametry stanovení IgG3 na systému IMAGE 800

ÚDAJE PROTOKOLU			
Název metody:	<b>IgG3 Latex</b>	Jednotky:	<b>g/l</b>
Šarže reagensie:		Protokol:	<b>Nekompetitivní NIPIA</b>
Šarže zásobníku reagensie:		Datum expirace reagensie:	
Sériové č. zásobníku reagensie:		Počet testů v zásobníku:	
Limit AGXS:		Aktivace AGXS:	<input type="checkbox"/>
Pufr:	<b>BUF3</b>	Ředidlo:	<b>DIL1</b>
Objem vzorku nebo ředění:	<b>4 µl</b>	Zesílení:	<b>1</b>
Objem reakčního pufru:	<b>200 µl</b>	Ředění kalibrátoru:	<b>1:5</b>
Objem oddílu A:	<b>70 µl</b>	Ředění vzorku:	<b>1:50*</b>
Objem oddílu B:	<b>0 µl</b>	Reakční čas:	<b>1,5 minuty</b>
INFORMACE O KALIBRACI			
		Hladina kalibrátoru	<u>Zadaná hodnota kalibrátoru</u>
Hladiny:	<b>6</b>	Hladina 1 = Cal 2	
Počet opakování:	<b>1</b>	Hladina 2 = Cal 3	
Aktualizace hladiny:	<b>4**</b>	Hladina 3 = Cal 4	
Počet opakování:	<b>1**</b>	Hladina 4 = Cal 5	
		Hladina 5 = Cal 6	
		Hladina 6 = Cal 7	

### Parametry stanovení IgG4 na systému IMAGE 800

ÚDAJE PROTOKOLU			
Název metody:	<b>IgG4 Latex</b>	Jednotky:	<b>g/l</b>
Šarže reagensie:		Protokol:	<b>Nekompetitivní NIPIA</b>
Šarže zásobníku reagensie:		Datum expirace reagensie:	
Sériové č. zásobníku reagensie:		Počet testů v zásobníku:	
Limit AGXS:		Aktivace AGXS:	<input type="checkbox"/>
Pufr:	<b>BUF3</b>	Ředidlo:	<b>DIL1</b>
Objem vzorku nebo ředění:	<b>7 µl</b>	Zesílení:	<b>1</b>
Objem reakčního pufru:	<b>195 µl</b>	Ředění kalibrátoru:	<b>1:5</b>
Objem oddílu A:	<b>70 µl</b>	Ředění vzorku:	<b>1:50*</b>
Objem oddílu B:	<b>0 µl</b>	Reakční čas:	<b>1,5 minuty</b>
INFORMACE O KALIBRACI			
		Hladina kalibrátoru	<u>Zadaná hodnota kalibrátoru</u>
Hladiny:	<b>7</b>	Hladina 1 = Cal 1	
Počet opakování:	<b>1</b>	Hladina 2 = Cal 2	
Aktualizace hladiny:	<b>4**</b>	Hladina 3 = Cal 3	
Počet opakování:	<b>1**</b>	Hladina 4 = Cal 4	
		Hladina 5 = Cal 5	
		Hladina 6 = Cal 6	
		Hladina 7 = Cal 7	

- \* Při prvním použití zásobníku UDR se v poli „Sample Dilution“ (Ředění vzorku) automaticky zobrazí stejná hodnota jako v poli „Cal Dilution“ (Ředění kalibrátoru). Chcete-li vzorek analyzovat při jiném ředění, než je ředění kalibrátoru, musí být metoda nejprve kalibrována a schválena. Teprve poté lze zadat uvedené ředění vzorku.

- \*\* Protože tato souprava nebyla vyvinuta pro jednobodovou kalibraci, uživatelé by VŽDY měli zpracovat celou kalibrační křivku.

### Hodnocení výsledků

1. Systém vypočítá výsledky automaticky.
2. Koncentrace podtříd IgG v kontrolních sérech by se měly nacházet v rozmezích uvedených v tabulce 3 příloženého informačního letáku. Pokud je některý výsledek mimo rozsah uvedený v tabulce 3, specifickou kontrolu změňte znovu za použití nového ředění. Pokud se odchýlený výsledek potvrdí, měla by být vytvořena nová referenční křivka. V případě neplatných výsledků kontrol by neměly být zveřejněny výsledky pacienta.
3. Za účelem ověření možného nadbytku antigenu vypočtete součet všech čtyř podtříd IgG a porovnejte jej s celkovou koncentrací IgG naměřenou pomocí reagensie s protilátkou proti IgG. Součet všech čtyř podtříd IgG by se měl rovnat celkovému IgG  $\pm 15\%$ . Pokud je součet všech podtříd vzdálen od hodnoty celkového IgG o více než  $15\%$ , je třeba analýzu zopakovat za použití jiných ředění.
4. Pro hodnocení koncentrací podtříd IgG v testovaném vzorku porovnejte zjištěné hladiny s normálními hodnotami podtříd IgG (viz část **Referenční rozmezí**).

### Rozsahy stanovení

Rozsahy měření a citlivost závisí na koncentraci analytů v kalibrátoru. Rozsahy stanovení specifické pro soupravu jsou uvedeny v tabulce 2 příloženého informačního letáku.

Podtřída IgG	Přibližný počáteční rozsah měření		Přibližná citlivost	
	Koncentrace (g/l)	Ředění vzorku	Koncentrace (g/l)	Ředění vzorku
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

**Referenční rozmezí**

Referenční rozmezí (g/l) pro podtřídy IgG ve vzorcích séra zdravých jedinců bílé etnické rasy (interní data společnosti Sanquin, 10, 12). Pro jiné populace je třeba získat samostatné referenční rozsahy.

Věk	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
1 - 6 měs.	1,8 - 7,0	0,34 - 2,1	0,14 - 0,80	0,017 - 0,36
6 - 12 měs.	2,0 - 7,7	0,34 - 2,3	0,15 - 0,97	0,012 - 0,43
1 - 1½ roku	2,5 - 8,2	0,38 - 2,4	0,15 - 1,07	0,011 - 0,62
1½ - 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 let	3,7 - 10,0	0,72 - 3,4	0,13 - 1,33	0,017 - 1,58
6 - 9 let	4,0 - 10,8	0,85 - 4,1	0,13 - 1,42	0,023 - 1,89
9 - 12 let	4,0 - 11,5	0,98 - 4,8	0,15 - 1,49	0,030 - 2,10
12 - 18 let	3,7 - 12,8	1,06 - 6,1	0,18 - 1,63	0,035 - 2,30
> 18 let	4,9 - 11,4	1,50 - 6,4	0,20 - 1,10	0,080 - 1,40

**Specifikace****a. Reprodukovatelnost**

		Přesnost v rámci série testů				Přesnost mezi sériemi testů				Celková přesnost			
		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
	počet dní	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	počet dávek									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
	počet dní	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	počet dávek									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
	počet dní	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	počet dávek									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
	počet dní	1	1	1	1	5	5	5	5	15	15	15	15
	počet dávek									3	3	3	3

Byla použita směrnice CLSI/NCLLS EP5-A2.

**b. Porovnání soupravy PeliClass™ human IgG subclass se soupravou PeliClass™ human IgG subclass Plus (x versus y)**

Koncentrace IgG1, IgG2, IgG3 a IgG4 stanovené v sérech za použití této soupravy byly porovnány s odpovídajícími hodnotami zjištěnými za použití soupravy PeliClass human IgG subclass (katalog. č. M1775). K porovnání byla použita metoda Passingovy a Bablokovy regrese. Byla použita směrnice CLSI/NCCLS-EP9-A2. Byly zjištěny následující korelace:

Podtřída IgG	Směrnice	Interval spolehlivosti	Úsek (g/l)	Interval spolehlivosti	n	Korelace
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	0,020 – 0,055	94	0,99
Celkem	1,01	1,00 - 1,03	0,06	-0,08 – 0,21	95	1,00

**c. Variace mezi šaržemi soupravy PeliClass™ human IgG subclass Plus**

Koncentrace IgG1, IgG2, IgG3 a IgG4 v sérech byly stanoveny za použití různých šarží reagensů. K porovnání byla použita metoda Passingovy a Bablokovy regrese. Byla použita směrnice CLSI/NCCLS-EP9-A2. Byly zjištěny následující korelace:

Podtřída IgG	Směrnice	Interval spolehlivosti	Úsek (g/l)	Interval spolehlivosti	n	Korelace
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. Součet podtříd oproti celkovému IgG**

$y = 1,07x - 0,15$  (g/l), kde  $x$  = celkový IgG a  $y$  = součet podtříd.  
Korelační koeficient = 0,991 a  $n = 38$ .

**e. Interference**

Interference u stanovení podtříd IgG byla testována pomocí směrnice CLSI/NCCLS EP7-A2.

Byly testovány následující látky v níže uvedených koncentracích a jejich vliv byl nižší než 10 %. U každé podtřídě IgG byly testovány dvě koncentrace. 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 koncentrace
Albumin	60 g/l
Bilirubin (konjugovaný)	20 mg/dl
Bilirubin (nekonjugovaný)	20 mg/dl
Hemoglobin	2 g/l
Revmatoidní faktor	50 IU/ml
Triglyceridy	37 mmol/l*

\*: U stanovení IgG1, IgG3 a IgG4 se neprojevily interference triglyceridů. U IgG2 nebyla zjištěna žádná interference pouze po odstředění vzorku.

**Poznámka:**

Hodnoty uváděné jako specifické výkonnostní charakteristiky stanovení představují typické výsledky a nemělo by na ně být nahlíženo jako na specifikace této soupravy.

**Omezení**

1. Uživatel by měl být zaškolen a obeznán s postupem používání uživatelsky definovaných reagensů v přístroji a postupem testu.
2. U vzorků obsahujících látky uvedené v části **Specifikace e.** ve vyšších hladinách, než bylo testováno, a u vzorků obsahujících monoklonální imunoglobuliny nebo cirkulující imunokomplexy mohou být získány neočekávané výsledky. Tyto vzorky by měly být analyzovány jinou metodou.
3. Dbejte na to, aby údržba přístroje odpovídala návodu. Používejte pouze plně vybavený přístroj.
4. Zjištění snížené hladiny jedné z podtříd IgG nikdy nemůže poskytnout definitivní diagnózu, ale mělo by být pokládáno spíše za indikaci poruchy imunitního systému vyžadující další diagnostické šetření.
5. Referenční křivky sice zůstávají stabilní 1 měsíc, ale pro kontrolu platnosti referenčních křivek by měla být vždy používána kontrolní séra. Když je některá kontrola mimo dané rozmezí, musí být vytvořena nová referenční křivka.
6. Při použití nové šarže musí být vytvořena nová referenční křivka.
7. Žádný materiál nepoužívejte po uplynutí data expirace uvedeného na štítku.
8. Při použití nelze zaměňovat reagensie s různým číslem šarže.
9. Nemíchejte žádné zbytky reagensů (např. mrtvé objemy) s obsahem čerstvě otevřených lahvíček.
10. Nelze zaměňovat uzávěry různých lahvíček. Uzávěry je třeba vracet na odpovídající lahvičky.
11. Vždy stanovte celkový IgG a porovnejte jej se součtem podtříd jako kontrolu možného přebytku antigenu.
12. Složky soupravy nepoužívejte v jiných přístrojích, než je uvedeno na štítcích.
13. Nepoužívejte jiné nastavení přístroje, než je uvedeno.

**Reference**

1. Shakib F. (editor svazku). 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. a kol. Eur. Clin. Lab. 8: 26 (1989).
4. Jefferis R. a Kumararatne D.S. Clin. Exp. Immunol. 81: 357 (1990).
5. Hamilton R.C. Clin. Chem. 33: 1707 (1987).
6. Vries E. de a kol. Clin. Exp. Immunol. 145: 204 (2006).
7. Beck C.S. a Heiner D.C. Am. Rev. Respir. Dis. 124: 94 (1981).
8. Giessen M. a kol. Immunology 27: 655 (1974).
9. Goossen P.C.M. a kol. J. Immunol. Methods 40: 339 (1981).
10. Vlug A. a kol. Ann. Biol. Clin. 52: 561 (1994).

11. Klein F. a kol. Clin. Chem. Acta. 150: 119 (1985).
12. Lepage N. a kol. Clin. Biochem. 43: 694 (2010).

*Sanquin zaručuje, že funkční charakteristiky jejích produktů budou takové, jaké jsou popsány v původních návodech k použití od výrobce. Je nezbytné přesně dodržovat postupy, rozvržení testů a doporučení k činidlům a vybavení. Nadace Sanquin se zříká veškeré zodpovědnosti v případě jakýchkoli odchylek od těchto postupů, rozvržení a doporučení.*