

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

301\_v03 06/2018 (de)

*Ausschließlich für berufliche Zwecke*

- Kit für die quantitative Bestimmung von humanen IgG-Subklassen im Serum und Plasma auf dem Beckman IMMAGE® / IMMAGE 800®

CAL	CONTROL	NEPH	NEPH/NIPIA	NIPIA	ORG	≥-≤
Kalibrator	Kontrolle	Nephelometrie	Nephelometrie / NIPIA	NIPIA	Herkunft	Bereich

## Allgemeine Informationen

Humanes IgG umfasst die vier Subklassen IgG1, IgG2, IgG3 und IgG4. Die biochemischen Merkmale der IgG-Subklassen sind ausführlich beschrieben worden (1-5). Die IgG-Subklassen unterscheiden sich in mehreren biologisch wichtigen Funktionen wie z. B. in der Antigenerkennung, Komplementaktivierung und Bindung an Zelloberflächenrezeptoren. In vielen Studien konnte nachgewiesen werden, dass abnormale Serumkonzentrationen der IgG-Subklassen mit verschiedenen Krankheitszuständen in Verbindung gebracht werden können (6). So wurde insbesondere ein Zusammenhang zwischen einem selektiven IgG2-Subklassenmangel und einer erhöhten Anfälligkeit für virale und bakterielle Infektionen hinreichend dokumentiert (4, 5). Niedrige IgG2- oder IgG3-Serumkonzentrationen wurden von Patienten mit rezidivierenden Infektionen der oberen und unteren Atemwege berichtet. Weiterhin besteht ein Zusammenhang zwischen sehr niedrigen IgG4-Serumkonzentrationen und rezidivierenden sinopulmonalen Infektionen (7). Abnormale Serumkonzentrationen für IgG-Subklassen wurden auch bei Autoimmunerkrankungen, neurologischen Störungen und HIV-Infektionen beobachtet (4, 6).

## Testprinzip

Der PeliClass™ Plus Kit zum Nachweis humaner IgG-Subklassen wurde für eine schnelle, reproduzierbare und spezifische Quantifizierung von humanen IgG-Subklassen (IgG1, IgG2, IgG3 und IgG4) entwickelt.

Die nephelometrische Bestimmung von IgG1 und IgG2 im Serum beruht auf der spezifischen Reaktion mit einem monospezifischen, hochgradig aviden Anti-IgG-Subklassen-Antiserum. Die NIPIA-Bestimmung von IgG3 und IgG4 im Serum basiert auf der spezifischen Reaktion mit den monospezifischen, hochgradig aviden Anti-IgG-Subklassen-Antisera, die für eine höhere analytische Sensitivität an Latex-Partikel gebunden sind.

Die fraktionierten Antihuman-IgG-Subklassen-Seren (Schaf) werden durch Absorption mit isolierten Gammaglobulinen der unerwünschten IgG-Subklassen und gegebenenfalls durch Absorption mit isolierten Serumfraktionen hergestellt (8-10). Die für diesen Kit verwendeten polyklonalen Antisera sind spezifisch gegen humane IgG-Subklassen gerichtet und wurden wegen ihrer hohen Avidität ausgewählt. Die nephelometrische und die NIPIA-Bestimmung beruht auf der Bildung von Immunkomplexen, die durch die Messung der Lichtstreuung quantifiziert werden. Die IgG-Subklassen-Konzentrationen in den Proben werden über Referenzkurven ermittelt, die mit Hilfe der mitgelieferten IgG-Subklassen-Kalibratoren erstellt werden.

Die IgG-Subklassen-Kontrollseren dienen zur Überprüfung der Referenzkurven und der Richtigkeit der IgG-Subklassen-Bestimmungen.

Die Konzentrationen der IgG-Subklassen-Kalibratorsetzpunkte wurden mit Hilfe des Referenzmaterials ERM-DA470 erstellt. Die zugewiesenen Konzentrationen sind 6,210 g/L für IgG1, 3,45 g/L für IgG2, 0,390 g/L für IgG3 und 0,591 g/L für IgG4 und wurden vom WHO-Standard 67/97 abgeleitet(11).

## Lagerung und Stabilität

Alle Komponenten sind bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum stabil, wenn sie bei 2-8°C gelagert werden.

Transportbedingungen können von den Lagerungsbedingungen abweichen. Die IgG3- und IgG4-Latex-Reagenzien dürfen nicht eingeforen werden.

Nach dem Öffnen sind die Komponenten 1 Monat stabil, sofern sie bei 2-8°C gelagert werden, dabei ist das auf dem Etikett angegebene Verfalldatum zu beachten.

Nach Abschluss der Messungen werden die Reagenzien wieder bei 2-8°C im Kühlschrank aufbewahrt.

Vor der Lagerung der Reagenzkartuschen im Kühlschrank sind die Verdunstungskappen durch Schraubdeckel zu ersetzen.

Die Kalibrationsstabilität beträgt mindestens 1 Monat, die Stabilität der Kalibration sollte durch Kontrollmessungen überprüft werden.

## Inhalt der Packung

Mit dem PeliClass™ Plus Kit zum Nachweis humaner IgG-Subklassen können 50 quantitative Bestimmungen je IgG-Subklasse, einschließlich Kalibrationen und Kontrollmessungen, durchgeführt werden. Alle auf der ersten Seite dieser Packungsbeilage genannten Kitbestandteile können einzeln bestellt werden.

Antikörper vom Schaf gegen humanes IgG1	1x 2.4 mL	<b>REF</b> M1891
Antikörper vom Schaf gegen humanes IgG2	1x 2.9 mL	<b>REF</b> M1892
An Latex gebundene Antikörper vom Schaf gegen humanes IgG3	1x 4.0 mL	<b>REF</b> M1893
An Latex gebundene Antikörper vom Schaf gegen humanes IgG4	1x 4.0 mL	<b>REF</b> M1894
Kalibrator-Set für humane IgG-Subklassen	7x 1.0 mL	<b>REF</b> M1896
Kontrollserum 1 für humane IgG-Subklassen	1x 1.0 mL	<b>REF</b> M1897
Kontrollserum 2 für humane IgG-Subklassen	1x 1.0 mL	<b>REF</b> M1898

Bei den IgG1- und IgG2-Antisera handelt es sich um spezifische flüssige Antisera vom Schaf. Bei den IgG3- und IgG4-Antisera handelt es sich um eine Suspension von Polystyrolpartikeln, die an spezifische Antikörper vom Schaf gebunden sind. Bei den Kalibratoren und Kontrollen handelt es sich um flüssige Humansera. Konservierungsmittel: NaN<sub>3</sub> 0,1 % (G/V).

## Zusätzliche Materialien und/oder Ausrüstung

- Beckman Coulter IMMAGE® / IMMAGE 800® Immunchemiesystem
- Beckman Coulter IMMAGE® Puffer 1
- Beckman Coulter IMMAGE® Puffer 3
- Beckman Coulter IMMAGE® Diluent 1
- Beckman Coulter IMMAGE® UDR-Kartuschen
- Beckman Coulter IGG (gesamt-Immunglobulin G)

## Vorsichtsmaßnahmen

Bei den Kalibratoren und Kontrollen handelt es sich um flüssige Humansera. Die Humansera wurden auf das Vorliegen übertragbarer Krankheiten entsprechend der aktuellen EU-Leitlinien zu GMP getestet und als nicht infektiös befunden. Trotzdem sollten alle Kitbestandteile humanen Ursprungs als potenziell infektiös betrachtet werden. Abfälle sind nach den einschlägigen Laborvorschriften entsorgen.

Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Reagenzien infektiöse Erreger enthalten.

Alle Komponenten sind bis zu dem auf dem Etikett aufgedruckten Verfalldatum stabil, wenn sie bei 2-8°C gelagert werden. Transportbedingungen können von den Lagerungsbedingungen abweichen. Die IgG3- und IgG4-Latex-Reagenzien dürfen nicht eingeforen werden.

#### Probenmaterial

Es können Serum und Plasma (EDTA und Na-Heparin) gemessen werden. Die Proben sollten möglichst frisch sein und können bis zu 1 Woche bei 2-8°C gelagert werden. Werden die Proben nicht innerhalb von 1 Woche gemessen, so können sie bis zu 3 Monate bei -18°C bis -30°C tiefgefroren gelagert werden. Durch wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben kann es zu einer Beeinträchtigung der Analyte kommen. Trübe und lipämische Proben sollten nicht verwendet werden. Lipämie und Trübung sind vor der Messung durch Zentrifugation zu entfernen. Eine manuelle Verdünnung der Proben - sofern nicht anders angegeben - wird nicht empfohlen.

#### Testverfahren

Bei Verwendung von Latex-Reagenzien sind zusätzliche Küvettenwaschzyklen erforderlich, dazu ist in der IMAGE-Menüleiste „Dienstprogramme“ und dann Option 7 „Küvetten waschen“ auszuwählen. Vor und nach Verwendung der Latex-Reagenzien einen (1) Küvettenwaschzyklus durchführen. Wenn mehr als 39 Latex-Bestimmungen nacheinander durchgeführt werden, ist der Küvettenwaschzyklus zu wiederholen.

- 1 Alle Kit-Bestandteile und Proben vor Verwendung auf Zimmertemperatur (18-25°C) erwärmen und vor Gebrauch vorsichtig mischen. Blasen- oder Schaumbildung vermeiden.
- 2 Die Kalibrationskurven für die IgG-Subklassen sind mit Hilfe der gebrauchsfertigen Kalibratoren zu erstellen.
  - a) Bei IMAGE®-Systemen können für anwenderdefinierte Reagenzien (UDRs) nur ein BUF10 und ein DIL10 ausgewählt werden. Für IgG1- und IgG2-Antiseren wird BUF1, für IgG3- und IgG4-Latex-Reagenzien wird BUF3 benötigt. Aus diesem Grund werden die Messungen seriell in Abhängigkeit vom Puffertyp durchgeführt. Bei Wechsel von der IgG1- und IgG2-Bestimmung zur IgG3- und IgG4-Bestimmung (Latex-Reagenzien) muss der Puffer gewechselt werden und umgekehrt. Für alle vier Subklassenbestimmungen wird die gleiche Verdünnungslösung (DIL1) verwendet. Bei IMAGE 800®-Systemen werden BUF1 und BUF3 für die jeweiligen UDR-Protokolle ausgewählt.
  - b) Die vier IgG-Subklassen-UDR-Protokolle entsprechend den Angaben (s.u.) eingeben (siehe Warnhinweis (\*) unter Abbildungen). Bei IMAGE®-Systemen BUF10 und DIL10 im Menü Reagenz/Kal-Status anwählen.
  - c) Die Konzentrationen für die gebrauchsfertigen IgG-Subklassen-Kalibratoren sind der Tabelle 2 der Packungsbeilage zu entnehmen.
  - d) Vier UDR-Kartuschen mit Etiketten versehen, der UDR-Barcode darf dabei nicht überdeckt werden. Antiseren und Latex-Reagenzien im Kartuschenkompartiment A der jeweiligen UDR-Kartusche einfüllen und Verdunstungskappen anbringen. Die UDR-Kartuschen in das Reagenzkarussell einsetzen und in das IMAGE-Reagenzienfach stellen.
  - e) Die Kalibratoren in Probencups einfüllen und in die Probensektoren stellen, danach in das IMAGE-Probenkarussell hängen. Hinweis: Nicht alle Kalibratorseren werden für alle IgG-Subklassenbestimmungen verwendet (siehe Tabelle 2 der Packungsbeilage). Anmerkung: Sollen die vier IgG-Subklassen gleichzeitig kalibriert werden, so sind die Kalibratoren in vier Probensektoren zu setzen. Alternativ können die Kalibrationen nacheinander mit dem gleichen Probensektor erfolgen.
  - f) Die Kalibration der IgG-Subklassen anfordern und durchführen. Anschließend die Kalibrationskurve durch Wahl des Kurvenmodells Polynom 3. Ordnung bestätigen.
  - g) Nach Bestätigung der Kalibration muss jeweils die Probenverdünnung im UDR-Protokoll entsprechend der Vorgabe im UDR-Protokoll geändert werden (siehe Abbildungen).
  - h) Die Richtigkeit der Kalibration wird mittels Kontrollmessungen überprüft. Die Kontrollen sollten wie Proben behandelt und bewertet werden. Die Kalibrationskurven sind für die Messung von Proben verwendbar, wenn die Kontrollergebnisse innerhalb der erlaubten Bereiche (Tabelle 3 der Packungsbeilage) liegen.
- 3 Die Proben für die IgG-Subklassen-Bestimmungen messen. Die IMAGE-Systeme verdünnen die Proben automatisch wie im UDR-Protokoll festgelegt. Bei Ergebnissen oberhalb des vorgegebenen Messbereichs (ORHI) sollte IgG2 in einer höheren Probenverdünnung (1:50) gemessen bzw. für IgG1, IgG3 und IgG4 eine manuelle Probenvorverdünnung durchgeführt und die Messung wiederholt werden. Bei Ergebnissen unterhalb des vorgegebenen Messbereichs (ORLO) sollten IgG3 und IgG4 in einer niedrigeren Probenverdünnung (1:5) gemessen werden. Für IgG1 und IgG2 sollte die Messung in keiner anderen Verdünnung erfolgen.
- 4 Die Richtigkeit und Präzision der IgG-Subklassenbestimmungen werden durch Messung der Kontrollen 1 und 2 überprüft.
- 5 Nach der Messung sollten die Reagenzien nicht am IMAGE® / IMAGE 800® verbleiben. Die Reagenzkartuschen mit Schraubdeckel verschließen und bei 2-8°C lagern.

### IgG1 IMAGE Parameter

<u>UDR-PROTOKOLL</u>		
Testname: <b>IgG1</b>	Einheit: <b>g/L</b>	
Reagenzien- chargennummer:	Protokoll: <b>Nicht kompetitiv, nephelometrisch</b>	
Kartuschennummer:	Reagenz verw. bis:	
Kartuschen-Serien Nr:		
Puffer: <b>BUF10</b>	Verdünnung: <b>DIL10</b>	
Proben- oder Verdünnungsvolumen:	Verstärkung: <b>3</b>	
Reaktionspuffervolumen: <b>250 µL</b>	Kal.-Verdünnung <b>1:8</b>	
Volumen Kammer A: <b>40 µL</b>	Probenverdünnung: <b>1:50*</b>	
Volumen Kammer B: <b>0 µL</b>	Reaktionszeit: <b>1.5 Minuten</b>	
<u>KALIBRATIONSGEWINNUNGSINFORMATIONEN</u>		
Levels: <b>6</b>	<u>Kal.-Level</u>	<u>Kal.-Setzpunkte</u>
Replikate: <b>1</b>	Level 1 = Kal. 2	
	Level 2 = Kal. 3	
	Level 3 = Kal. 4	
	Level 4 = Kal. 5	
	Level 5 = Kal. 6	
	Level 6 = Kal. 7	

### IgG2 IMAGE Parameter

<u>UDR-PROTOKOLL</u>		
Testname: <b>IgG2</b>	Einheit: <b>g/L</b>	
Reagenzien- chargennummer:	Protokoll: <b>Nicht kompetitiv, nephelometrisch</b>	
Kartuschennummer:	Reagenz verw. bis:	
Kartuschen-Serien Nr:		
Puffer: <b>BUF10</b>	Verdünnung: <b>DIL10</b>	
Proben- oder Verdünnungsvolumen:	Verstärkung: <b>3</b>	
Reaktionspuffervolumen: <b>240 µL</b>	Kal.-Verdünnung <b>1:5</b>	
Volumen Kammer A: <b>50 µL</b>	Probenverdünnung: <b>1:30*</b>	
Volumen Kammer B: <b>0 µL</b>	Reaktionszeit: <b>2.5 Minuten</b>	
<u>KALIBRATIONSGEWINNUNGSINFORMATIONEN</u>		
Levels: <b>7</b>	<u>Kal.-Level</u>	<u>Kal.-Setzpunkte</u>
Replikate: <b>1</b>	Level 1 = Kal. 1	
	Level 2 = Kal. 2	
	Level 3 = Kal. 3	
	Level 4 = Kal. 4	
	Level 5 = Kal. 5	
	Level 6 = Kal. 6	
	Level 7 = Kal. 7	

### IgG3 IMAGE Parameter

<u>UDR-PROTOKOLL</u>		
Testname: <b>IgG3 Latex</b>	Einheit: <b>g/L</b>	
Reagenzien- chargennummer:	Protokoll: <b>Nicht kompetitiv, NIPIA</b>	
Kartuschennummer:	Reagenz verw. bis:	
Kartuschen-Serien Nr:		
Puffer: <b>BUF10</b>	Verdünnung: <b>DIL10</b>	
Proben- oder Verdünnungsvolumen:	Verstärkung: <b>1</b>	
Reaktionspuffervolumen: <b>200 µL</b>	Kal.-Verdünnung <b>1:5</b>	
Volumen Kammer A: <b>70 µL</b>	Probenverdünnung: <b>1:50*</b>	
Volumen Kammer B: <b>0 µL</b>	Reaktionszeit: <b>1.5 Minuten</b>	
<u>KALIBRATIONSGEWINNUNGSINFORMATIONEN</u>		
Levels: <b>6</b>	<u>Kal.-Level</u>	<u>Kal.-Setzpunkte</u>
Replikate: <b>1</b>	Level 1 = Kal. 2	
	Level 2 = Kal. 3	
	Level 3 = Kal. 4	
	Level 4 = Kal. 5	
	Level 5 = Kal. 6	
	Level 6 = Kal. 7	

### IgG4 IMAGE Parameter

<u>UDR-PROTOKOLL</u>		
Testname: <b>IgG4 Latex</b>	Einheit: <b>g/L</b>	
Reagenzien- chargennummer:	Protokoll: <b>Nicht kompetitiv, NIPIA</b>	
Kartuschennummer:	Reagenz verw. bis:	
Kartuschen-Serien Nr:		
Puffer: <b>BUF10</b>	Verdünnung: <b>DIL10</b>	
Proben- oder Verdünnungsvolumen:	Verstärkung: <b>1</b>	
Reaktionspuffervolumen: <b>195 µL</b>	Kal.-Verdünnung <b>1:5</b>	
Volumen Kammer A: <b>70 µL</b>	Probenverdünnung: <b>1:50*</b>	
Volumen Kammer B: <b>0 µL</b>	Reaktionszeit: <b>1.5 Minuten</b>	
<u>KALIBRATIONSGEWINNUNGSINFORMATIONEN</u>		
Level: <b>7</b>	<u>Kal.-Level</u>	<u>Kal.-Setzpunkte</u>
Replikate: <b>1</b>	Level 1 = Kal. 1	
	Level 2 = Kal. 2	
	Level 3 = Kal. 3	
	Level 4 = Kal. 4	
	Level 5 = Kal. 5	
	Level 6 = Kal. 6	
	Level 7 = Kal. 7	

### IgG1 IMAGE 800 Parameter

UDR-PROTOKOLL			
Testname:	<b>IgG1</b>	Einheit:	<b>g/L</b>
Reagenzien- chargennummer:		Protokoll:	<b>Nicht kompetitiv, nephelometrisch</b>
Kartuschennummer:		Reagenz verw. bis:	
Kartuschen-Serien Nr.:		Tests je Kartusche:	
AGXS-Limit:		AGXS aktiviert:	<input type="checkbox"/>
Puffer:	<b>BUF1</b>	Verdünnung:	<b>DIL1</b>
Proben- oder Verdünnungsvolumen:	<b>10 µL</b>	Verstärkung:	<b>3</b>
Reaktionspuffervolumen:	<b>250 µL</b>	Kal.-Verdünnung:	<b>1:8</b>
Volumen Kammer A:	<b>40 µL</b>	Probenverdünnung:	<b>1:50*</b>
Volumen Kammer B:	<b>0 µL</b>	Reaktionszeit:	<b>1.5 Minuten</b>
KALIBRATIONSINFORMATIONEN			
		Kal.-Level	Kal.-Setzpunkte
Levels:	<b>6</b>	Level 1 = Kal. 2	
Replikate:	<b>1</b>	Level 2 = Kal. 3	
		Level 3 = Kal. 4	
1-Punkt Kal-Level:	<b>4**</b>	Level 4 = Kal. 5	
Replikate:	<b>1**</b>	Level 5 = Kal. 6	
		Level 6 = Kal. 7	

### IgG2 IMAGE 800 Parameter

UDR-PROTOKOLL			
Testname:	<b>IgG2</b>	Einheit:	<b>g/L</b>
Reagenzien- chargennummer:		Protokoll:	<b>Nicht kompetitiv, nephelometrisch</b>
Kartuschennummer:		Reagenz verw. bis:	
Kartuschen-Serien Nr.:		Tests je Kartusche:	
AGXS-Limit:		AGXS aktiviert:	<input type="checkbox"/>
Puffer:	<b>BUF1</b>	Verdünnung:	<b>DIL1</b>
Proben- oder Verdünnungsvolumen:	<b>30 µL</b>	Verstärkung:	<b>3</b>
Reaktionspuffervolumen:	<b>240 µL</b>	Kal.-Verdünnung:	<b>1:5</b>
Volumen Kammer A:	<b>50 µL</b>	Probenverdünnung:	<b>1:30*</b>
Volumen Kammer B:	<b>0 µL</b>	Reaktionszeit:	<b>2.5 Minuten</b>
KALIBRATIONSINFORMATIONEN			
		Kal.-Level	Kal.-Setzpunkte
Levels:	<b>7</b>	Level 1 = Kal. 1	
Replikate:	<b>1</b>	Level 2 = Kal. 2	
		Level 3 = Kal. 3	
1-Punkt Kal-Level:	<b>4**</b>	Level 4 = Kal. 4	
Replikate:	<b>1**</b>	Level 5 = Kal. 5	
		Level 6 = Kal. 6	
		Level 7 = Kal. 7	

### IgG3 IMAGE 800 Parameter

UDR-PROTOKOLL			
Testname:	<b>IgG3 Latex</b>	Einheit:	<b>g/L</b>
Reagenzien- chargennummer:		Protokoll:	<b>Nicht kompetitiv, NIPIA</b>
Kartuschennummer:		Reagenz verw. bis:	
Kartuschen-Serien Nr.:		Tests je Kartusche:	
AGXS-Limit:		AGXS aktiviert:	<input type="checkbox"/>
Puffer:	<b>BUF3</b>	Verdünnung:	<b>DIL1</b>
Proben- oder Verdünnungsvolumen:	<b>4 µL</b>	Verstärkung:	<b>1</b>
Reaktionspuffervolumen:	<b>200 µL</b>	Kal.-Verdünnung:	<b>1:5</b>
Volumen Kammer A:	<b>70 µL</b>	Probenverdünnung:	<b>1:50*</b>
Volumen Kammer B:	<b>0 µL</b>	Reaktionszeit:	<b>1.5 Minuten</b>
KALIBRATIONSINFORMATIONEN			
		Kal.-Level	Kal.-Setzpunkte
Levels:	<b>6</b>	Level 1 = Kal. 2	
Replikate:	<b>1</b>	Level 2 = Kal. 3	
		Level 3 = Kal. 4	
1-Punkt Kal-Level:	<b>4**</b>	Level 4 = Kal. 5	
Replikate:	<b>1**</b>	Level 5 = Kal. 6	
		Level 6 = Kal. 7	

### IgG4 IMAGE 800 Parameter

UDR-PROTOKOLL			
Testname:	<b>IgG4 Latex</b>	Einheit:	<b>g/L</b>
Reagenzien- chargennummer:		Protokoll:	<b>Nicht kompetitiv, NIPIA</b>
Kartuschennummer:		Reagenz verw. bis:	
Kartuschen-Serien Nr.:		Tests je Kartusche:	
AGXS-Limit:		AGXS aktiviert:	<input type="checkbox"/>
Puffer:	<b>BUF3</b>	Verdünnung:	<b>DIL1</b>
Proben- oder Verdünnungsvolumen:	<b>7 µL</b>	Verstärkung:	<b>1</b>
Reaktionspuffervolumen:	<b>195 µL</b>	Kal.-Verdünnung:	<b>1:5</b>
Volumen Kammer A:	<b>70 µL</b>	Probenverdünnung:	<b>1:50*</b>
Volumen Kammer B:	<b>0 µL</b>	Reaktionszeit:	<b>1.5 Minuten</b>
KALIBRATIONSINFORMATIONEN			
		Kal.-Spiegel	Kal.-Setzpunkte
Levels:	<b>7</b>	Level 1 = Kal. 1	
Replikate:	<b>1</b>	Level 2 = Kal. 2	
		Level 3 = Kal. 3	
1-Punkt Kal-Level:	<b>4**</b>	Level 4 = Kal. 4	
Replikate:	<b>1**</b>	Level 5 = Kal. 5	
		Level 6 = Kal. 6	
		Level 7 = Kal. 7	

\* Bei erstmaliger Verwendung einer UDR-Kartusche zeigt das Feld „Probenverdünnung“ automatisch denselben Wert wie das Feld „Kal.-Verdünnung“ an. Wenn eine Probe mit einer anderen Verdünnung als für den Kalibrator getestet werden soll, muss als erstes die Chemie kalibriert und gebilligt werden. Erst dann kann die Probenverdünnung wie dargelegt eingegeben werden.

\*\* Diese Kits wurden nicht für eine 1-Punkt-Kalibration entwickelt, deshalb sollte IMMER eine komplette Mehrpunkt-Kalibration durchgeführt werden.

### Auswertung

- Die Ergebnisse werden vom System automatisch berechnet.
- Die Kontrollwerte für die IgG-Subklassen sollten innerhalb der in Tabelle 3 der Packungsbeilage angegebenen Bereiche liegen. Liegt das Kontrollergebnis außerhalb des in Tabelle 3 angegebenen Bereichs, so sollte die Kontrolle unter Erstellung einer neuen Verdünnung wiederholt werden. Wird der abweichende Kontrollwert bestätigt, so sollte eine neue Kalibrationskurve erstellt werden. Bei Kontrollwerten außerhalb der erlaubten Bereiche sollten Patientenergebnisse nicht weitergegeben werden.
- Um eine mögliche Antigenüberschusssituation auszuschließen, sollte die Summe der vier IgG-Subklassen berechnet und mit der gesamt IgG-Konzentration verglichen werden. Die Summe der vier IgG-Subklassen sollte gleich dem gesamt-IgG  $\pm$  15 % sein. Weicht die Summe der vier Subklassen um mehr als 15 % vom gesamt-IgG ab, so sollte die Bestimmung der IgG-Subklassen in anderen Verdünnungen wiederholt werden.
- Für die Bewertung die IgG-Subklassen-Ergebnisse sind die Referenzbereiche für die IgG-Subklassen zu verwenden (siehe Abschnitt **Referenzbereiche**).

### Messbereiche

Messbereiche und Messempfindlichkeit hängen von den Kalibratorkonzentrationen ab. Die Kit-spezifischen Messbereiche sind der Tabelle 2 der Packungsbeilage zu entnehmen.

IgG Subklasse	Ungefäher Ausgangsmessbereich		Ungefäher Empfindlichkeit	
	Konzentration (g/L)	Probenverdünnung	Konzentration (g/L)	Probenverdünnung
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

## Referenzbereiche

Die Referenzbereiche (g/L) für IgG-Subklassen beziehen sich auf Serumproben von gesunden Kaukasiern (interne Daten Sanquin, 10, 12). Für andere Populationen sollten eigene Referenzbereiche ermittelt werden.

Alter	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
1 - 6 Monate	1.8 - 7.0	0.34 - 2.1	0.14 - 0.80	0.017 - 0.36
6 - 12 Monate	2.0 - 7.7	0.34 - 2.3	0.15 - 0.97	0.012 - 0.43
1 - 1½ Jahre	2.5 - 8.2	0.38 - 2.4	0.15 - 1.07	0.011 - 0.62
1½ - 2 Jahre	2.9 - 8.5	0.45 - 2.6	0.15 - 1.13	0.011 - 0.79
2 - 3 Jahre	3.2 - 9.0	0.52 - 2.8	0.14 - 1.20	0.012 - 1.06
3 - 4 Jahre	3.5 - 9.4	0.63 - 3.0	0.13 - 1.26	0.015 - 1.27
4 - 6 Jahre	3.7 - 10.0	0.72 - 3.4	0.13 - 1.33	0.017 - 1.58
6 - 9 Jahre	4.0 - 10.8	0.85 - 4.1	0.13 - 1.42	0.023 - 1.89
9 - 12 Jahre	4.0 - 11.5	0.98 - 4.8	0.15 - 1.49	0.030 - 2.10
12 - 18 Jahre	3.7 - 12.8	1.06 - 6.1	0.18 - 1.63	0.035 - 2.30
> 18 Jahre	4.9 - 11.4	1.50 - 6.4	0.20 - 1.10	0.080 - 1.40

## Spezifikationen

### a. Präzision

		Präzision innerhalb der Serie				Präzision zwischen den Serien				Gesamtpräzision			
		Serum 1	Serum 2	Serum 3	Serum 4	Serum 1	Serum 2	Serum 3	Serum 4	Serum 1	Serum 2	Serum 3	Serum 4
IgG1	Konz. (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
	Anzahl	10	10	10	10	20	20	20	20	80	80	80	80
	Tage	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	verw. Chargen									2	2	2	2
IgG2	Konz. (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
	Anzahl	10	10	10	10	20	20	20	20	79	80	80	77
	Tage	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	verw. Chargen									1	1	1	1
IgG3	Konz. (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
	Anzahl	10	10	10	10	20	20	20	20	98	98	98	98
	Tage	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	verw. Chargen									3	3	3	3
IgG4	Konz. (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
	Anzahl	10	10	10	10	20	20	20	20	100	100	100	98
	Tage	1	1	1	1	5	5	5	5	15	15	15	15
	verw. Chargen									3	3	3	3

Es wurde CLSI/NCLLS EP5-A2 verwendet.

**b. Vergleich zwischen dem PeliClass™ Kit zum Nachweis humaner IgG-Subklassen und dem PeliClass™ Plus Kit zum Nachweis humaner IgG-Subklassen (x ./ y)**

Die IgG1-, IgG2-, IgG3- und IgG4-Konzentrationen in Seren wurden mit diesem Kit bestimmt und mit den entsprechenden Werten, die mit dem PeliClass™ Kit zum Nachweis humaner IgG-Subklassen (REF. M1775) ermittelt wurden, verglichen.

Die Vergleichbarkeit wurde mittels Passing- und Bablok-Regression beurteilt. Es wurde CLSI/NCCLS-EP9-A2 verwendet. Die folgenden Korrelationsdaten wurden ermittelt.

IgG-Subklasse	Steigung	Konfidenzintervall	Abschnitt (g/L)	Konfidenzintervall	n	Korrelation
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
Summe	1,01	1,00 - 1,03	0,06	-0,08 - 0,21	95	1,00

**c. Chargenabweichungen beim PeliClass™ Plus Kit zum Nachweis humaner IgG-Subklassen**

Die IgG1-, IgG2-, IgG3- und IgG4-Bestimmung im Serum wurde mit verschiedenen Reagenzchargen durchgeführt. Die Vergleichbarkeit wurde mittels Passing- und Bablok-Regression beurteilt. Es wurde CLSI/NCCLS-EP9-A2 verwendet. Die folgenden Korrelationsdaten wurden ermittelt:

IgG-Subklasse	Steigung	Konfidenzintervall	Abschnitt (g/L)	Konfidenzintervall	n	Korrelation
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. Vergleich Summe der IgG-Subklassen vs Gesamt-IgG**

$y = 1,07x - 0,15$  (g/L), wobei  $x =$  Gesamt-IgG und  $y =$  Summe IgG-Subklassen, Korrelationskoeffizient = 0,991 und  $n = 38$ .

**e. Interferenzen**

Die IgG-Subklassen-Kits wurden mit Hilfe von CLSI/NCCLS EP7-A2 auf Interferenzen getestet.

Die folgenden Substanzen wurden bei den nachfolgend genannten Konzentrationen getestet. Das Ausmaß der Interferenz lag unter 10 %. Für jede IgG-Subklasse wurden zwei Konzentrationen getestet: IgG1 2,6 - 6,4 g/L, IgG2 1,6 - 3,6 g/L, IgG3 0,188 - 0,423 g/L und IgG4 0,277 - 0,552 g/L.

Substanz	getestete Konzentration
Albumin	60 g/L
Bilirubin (konjugiert)	20 mg/dL
Bilirubin (unkonjugiert)	20 mg/dL
Hämoglobin	2 g/L
Rheumafaktor	50 IE/mL
Triglyceride	37 mmol/L*

\* Die IgG1-, IgG3- und IgG4-Bestimmung wird durch Triglyceride nicht gestört. Bei IgG2 wurde erst nach der Zentrifugierung der Probe keine Interferenz festgestellt.

**Hinweis:**

Die als spezifische Leistungsmerkmale genannten Werte stellen typische Ergebnisse dar und sind nicht als Spezifikationen für dieses Kit zu betrachten.

**Einschränkungen**

- Anwender sollten mit dem Analysensystem, dem UDR-Verfahren und den Testverfahren vertraut sein und eine entsprechende Schulung erhalten haben.
- Unerwartete Messergebnisse können bei Proben erhalten werden, die in Absatz **Spezifikationen e.** genannte Substanzen in höheren Konzentrationen als getestet enthalten, oder die monoklonale Immunglobuline oder zirkulierende Immunkomplexe enthalten. Diese Proben sollten mit einer alternativen Methode analysiert werden.
- Die Wartung des Analysensystems hat in Übereinstimmung mit dem Bedienerhandbuch zu erfolgen. Nur ein voll einsatzfähiges Gerätesystem benutzen.
- Ein erniedrigter Wert für eine IgG-Subklasse dient niemals allein zur Diagnosestellung, sondern sollte vielmehr als Anhaltspunkt für eine Störung des Immunsystems gewertet werden, die weitere diagnostische Schritte bedarf.
- Obwohl die Kalibrationsstabilität einen 1 Monat beträgt, sollten die Kalibrationskurven anhand von Kontrollmessungen überprüft werden. Liegt eine Kontrolle außerhalb des erlaubten Bereichs, so muss neu kalibriert werden.
- Bei Chargenwechsel muss eine neue Kalibrationskurve erstellt werden.
- Reagenzien sind nach Ablauf der angegebenen Haltbarkeit nicht mehr zu verwenden.
- Reagenzien verschiedener Chargen sind nicht untereinander austauschbar.
- Reste von Reagenzien (z. B. Totvolumen) dürfen nicht mit neuen Reagenzien gemischt werden.
- Verschlüsse und Fläschchen sind nicht untereinander austauschbar. Die Verschlüsse nur an den entsprechenden Fläschchen anbringen.
- Immer das gesamt-IgG mit der Summe der Subklassen vergleichen, um eine mögliche Antigenüberschuss-Situation auszuschließen.
- Die Reagenzien nur am vorgesehenen Gerätesystem einsetzen.
- Änderungen in den UDR-Protokollen dürfen nicht vorgenommen werden.

#### Literatur

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 garantiert, dass die Funktionsweise seiner Produkte der Beschreibung in der Originalgebrauchsanweisung des Herstellers entspricht. Die strikte Einhaltung der Verfahren und Testanordnungen sowie die Verwendung der empfohlenen Reagenzien und Gerätschaften ist unerlässlich. Falls der Anwender von diesen Maßgaben abweicht, lehnt Sanquin jegliche Verantwortung ab.*