

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 (it)	<i>Solo per uso professionale</i>	

- Kit per la determinazione quantitativa di sottoclassi di IgG umane nel siero e plasma su Beckman IMMAGE® / IMMAGE 800®

CAL	CONTROL	NEPH	NEPH/NIPIA	NIPIA	ORG	≥≤
Calibratore	Controllo	Nefelometria	Nefelometria / NIPIA	NIPIA	Origine	Intervallo

Informazioni generali

Le IgG umane comprendono quattro sottoclassi: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Le caratteristiche biochimiche delle sottoclassi di IgG sono state ampiamente descritte (1-5). Le differenze tra le sottoclassi di IgG si riflettono in numerose funzioni biologicamente importanti quali il riconoscimento dell'antigene, l'attivazione del complemento e il legame con i recettori cellulari di superficie. Molti studi hanno indicato che la presenza di anomalie nei livelli sierici delle sottoclassi di IgG può essere associata a diversi stati patologici (6). In modo particolare, è stata ampiamente documentata la correlazione tra la carenza selettiva di immunoglobuline della sottoclasse IgG2 e una maggiore suscettibilità a infezioni virali o batteriche (4, 5). In pazienti affetti da infezioni ricorrenti a carico delle vie respiratorie superiori e inferiori sono stati riscontrati bassi livelli sierici di IgG2 o IgG3. Altri studi hanno riscontrato un'associazione tra concentrazioni sieriche di IgG4 molto basse e infezioni sinopolmonari ricorrenti (7). Sono state osservate anomalie dei livelli sierici delle sottoclassi di IgG anche in pazienti affetti da malattie autoimmuni, disturbi neurologici e infezioni da HIV (4, 6).

Principio del test

Il kit PeliClass™ human IgG subclass **Plus** è stato progettato per quantificare in modo rapido, riproducibile e specifico le sottoclassi di IgG umane (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4).

La determinazione nefelometrica delle IgG1 e IgG2 nel siero si basa sulla reazione specifica con un antisiero anti sottoclasse di IgG monospecifico, altamente avido. La determinazione turbidimetrica delle IgG3 e IgG4 nel siero si basa sulla reazione specifica con un reagente al lattice rivestito con anticorpi anti sottoclasse di IgG monospecifici, altamente avidi, per una maggiore sensibilità analitica.

I sieri di pecora frazionati anti sottoclasse di IgG umane sono resi specifici tramite assorbimento con gammaglobuline isolate appartenenti alle sottoclassi di IgG indesiderate e, se necessario, tramite assorbimento con frazioni isolate di siero (8-10). I reagenti policlonali di questo kit sono specifici per le sottoclassi di IgG umane e sono stati selezionati per l'elevata avidità. Le quantificazioni nefelometriche e turbidimetriche sono basate sulla generazione di immunocomplessi, quantificati misurando rispettivamente la luce diffusa e la luce che li attraversa. Le concentrazioni delle sottoclassi di IgG nei campioni da analizzare sono determinate mediante confronto con una curva di calibrazione, ottenuta con i calibratori delle sottoclassi di IgG forniti.

I sieri di controllo delle sottoclassi di IgG sono saggiati per verificare la validità delle curve di calibrazione e l'accuratezza delle determinazioni. I livelli delle sottoclassi di IgG nei calibratori sono stati determinati usando ERM-DA470 come calibratore. I valori assegnati sono 6,21 g/L per IgG1, 3,45 g/L per IgG2, 0,390 g/L per IgG3 e 0,591 g/L per IgG4 e sono derivati da WHO 67/97 (11).

Conservazione e stabilità

Tutti i componenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservati tra 2 e 8°C. Le condizioni di trasporto possono differire dalle condizioni di conservazione. Non congelare i reagenti al lattice per IgG3 e IgG4.

Una volta aperti, se conservati a temperature comprese tra 2 e 8°C, i componenti sono stabili per 1 mese, tenendo conto della data di scadenza riportata sull'etichetta.

Al termine delle attività quotidiane riporre i componenti a una temperatura compresa tra 2 e 8°C.

Prima di riporre le cartucce di reagente sostituire i tappi di evaporazione con tappi a vite.

Le curve di calibrazione sono stabili per almeno 1 mese ma per valutarne la validità è sempre necessario usare i sieri di controllo.

Contenuto della confezione

Il kit PeliClass™ human IgG subclass **Plus** permette di effettuare una determinazione quantitativa di quattro sottoclassi di IgG umane in 50 test, inclusi calibratori e controlli. Tutti i componenti elencati nella prima pagina di questo foglietto illustrativo possono essere ordinati separatamente.

Anticorpi di pecora anti-IgG1 umane	1x 2.4 mL	REF M1891
Anticorpi di pecora anti-IgG2 umane	1x 2.9 mL	REF M1892
Anticorpi di pecora al lattice anti-IgG3 umane	1x 4.0 mL	REF M1893
Anticorpi di pecora al lattice anti-IgG4 umane	1x 4.0 mL	REF M1894
Set calibratore sottoclassi IgG umane	7x 1.0 mL	REF M1896
Controllo 1 sottoclassi IgG umane	1x 1.0 mL	REF M1897
Controllo 2 sottoclassi IgG umane	1x 1.0 mL	REF M1898

Gli antisieri per IgG1 e IgG2 sono costituiti da siero di pecora liquido specifico.

I reagenti al lattice per IgG3 e IgG4 sono formati da una sospensione di particelle di polistirene rivestite con anticorpi di pecora specifici.

I calibratori e i controlli sono costituiti da siero umano liquido. Conservante: NaN₃ 0,1% (p/V).

Attrezzature e/o materiali aggiuntivi

- Sistema immunochimico Beckman Coulter **IMAGE® / IMAGE 800®**
- Tampone 1 Beckman Coulter **IMAGE®**
- Tampone 3 Beckman Coulter **IMAGE®**
- Diluente 1 Beckman Coulter **IMAGE®**
- Cartucce di reattivo (*User Defined Reagent, UDR*) Beckman Coulter **IMAGE®**
- Reagente Immunoglobuline G (IgG totali) Beckman Coulter.

Avvertenze

I calibratori e i controlli sono costituiti da siero umano liquido. Sebbene tutti i sieri umani siano stati sottoposti a ricerca dei marcatori di agenti specifici di trasmissione di malattie in conformità alle attuali linee guida dell'UE sulla GMP e siano risultati non reattivi, tutti i componenti di origine umana devono essere considerati potenzialmente infettivi. Smaltire i rifiuti nel rispetto delle normative interne del laboratorio.

I reagenti non possono essere considerati esenti da agenti infettivi.

Tutti i componenti sono stabili fino alla data di scadenza riportata sull'etichetta se conservati tra 2 e 8°C. Le condizioni di trasporto possono differire dalle condizioni di conservazione. Non congelare i reagenti al lattice per IgG3 e IgG4.

Trattamento dei campioni da analizzare

Possono essere analizzati campioni di siero e di plasma (trattati con EDTA e Na-eparina). I campioni devono essere quanto più freschi è possibile o devono essere conservati tra 2 e 8°C. Se non sono analizzati entro 1 settimana, devono essere conservati congelati a temperature comprese tra -18 e -30°C per un massimo di 3 mesi. Cicli ripetuti di congelamento-scongelo possono deteriorare l'analita. I campioni lipemici o

torbidi devono essere chiarificati mediante centrifugazione prima dell'analisi. Non utilizzare campioni che non possono essere chiarificati. A meno che diversamente specificato, i campioni non devono essere diluiti manualmente prima dell'uso.

Procedura del test

Quando si usano reagenti al lattice è necessario lavare due volte le cuvette, selezionando Programmi ("Utilità") dalla barra dei menu IMAGE e in seguito selezionando l'opzione 7 Lava cuvette ("Lavaggio Cuvette"). Lavare le cuvette una volta prima dell'analisi con reagenti al lattice e un'altra volta dopo l'uso. Nel caso in cui siano eseguiti in successione più di 39 test con lattice, ripetere la procedura.

- 1 Prima dell'uso portare tutti i componenti del kit e i campioni a temperatura ambiente (18-25°C) e miscelarli delicatamente. Evitare la formazione di bolle o di schiuma.
- 2 Preparare le curve di calibrazione per le sottoclassi di IgG utilizzando i calibratori pronti per l'uso.
 - a) Sul sistema **IMAGE®** è possibile selezionare come reagenti definiti dall'utente (UDR – user defined reagents) solo **BUF10** e **DIL10**. Gli antisieri per **IgG1** e **IgG2** usano **BUF1** mentre i reagenti al lattice per **IgG3** e **IgG4** usano **BUF3**. Queste analisi devono quindi essere eseguite un lotto alla volta per ogni tampone. Cambiare tampone quando si passa dagli antisieri per **IgG1** e **IgG2** ai reagenti al lattice per **IgG3** e **IgG4** e viceversa. I saggi delle quattro sottoclassi usano tutti **DIL1** come diluente. Sul sistema **IMAGE 800®** possono essere selezionati come UDR i tamponi Beckman.
 - b) Introdurre i parametri dei protocolli relativi alle quattro sottoclassi di IgG come indicato sotto (vedi le avvertenze (*) sotto gli schemi). Sul sistema **IMAGE®** si devono selezionare **BUF10** e **DIL10** dalle opzioni relative allo stato del reagente.
 - c) Introdurre le concentrazioni delle sottoclassi di IgG dei calibratori pronti per l'uso. Le concentrazioni delle sottoclassi di IgG nei vari calibratori sono riassunte nella tabella 2 del foglietto illustrativo accluso.
 - d) Etichettare quattro cartucce UDR, accertandosi che il codice a barre sia scoperto. Trasferire gli antisieri e i reagenti al lattice dai flaconcini al compartimento A delle cartucce designate e chiudere con i tappi di evaporazione. Porre le cartucce nel compartimento dei reagenti.
 - e) Caricare i calibratori nelle vaschette dei campioni, posizionare queste ultime nel rack e caricarle nel carosello. Attenzione: non tutti i sieri dei calibratori sono utilizzati per tutte le sottoclassi di IgG (vedere la tabella 2 del foglietto illustrativo accluso). NB: quando la calibrazione viene eseguita contemporaneamente al saggio delle sottoclassi di IgG, il set calibratore può essere caricato quattro volte in quattro differenti rack oppure la calibrazione può essere effettuata in sequenza.
 - f) Avviare la misurazione delle curve di calibrazione. Le curve di calibrazione sono calcolate nella schermata di approvazione della calibrazione usando polinomi di terzo grado.
 - g) Una volta approvate le curve di calibrazione, la diluizione del campione nel protocollo del saggio deve essere portata alla diluizione specificata (vedere schemi).
 - h) Utilizzare i sieri di controllo per verificare la validità delle curve di calibrazione. I sieri di controllo devono essere analizzati e valutati allo stesso modo dei campioni. Le curve di calibrazione sono valide fino a quando i controlli ricadono all'interno dei loro rispettivi intervalli riassunti nella tabella 3 del foglietto illustrativo accluso.
- 3 Caricare i campioni per le determinazioni delle sottoclassi di IgG. Analizzare i campioni. Il sistema diluisce automaticamente i campioni in base alla diluizione programmata. In caso di risultati che ricadono al di sopra dell'intervallo, ripetere il test aumentando la diluizione del campione (1:50) per **IgG2** o effettuando una pre-diluizione manuale per **IgG1**, **IgG3** **IgG4**. I risultati che ricadono al di sotto dell'intervallo devono essere misurati nuovamente con una diluizione 1:5 del campione per **IgG3** e **IgG4** mentre non devono essere misurati con altre diluizioni per **IgG1** e **IgG2**.
- 4 L'accuratezza e la precisione delle determinazioni delle sottoclassi di IgG possono essere verificate ripetendo l'analisi nei sieri di controllo 1 e 2.
- 5 Dopo l'uso, rimuovere i reagenti dall'**IMAGE®** / **IMAGE 800®**. Richiudere accuratamente le cartucce con il tappo a vite e conservarle a 2-8°C.

Parametri IMAGE per IgG1

INFORMAZIONI SUL PROTOCOLLO			
Nome chimico:	IgG1	Unità:	g/L
Lotto reagente:		Protocollo:	Nefelometria non competitiva
Lotto cartuccia reagente:		Data di scadenza reagente:	
Numero serie cartuccia:			
Tampone:	BUF10	Diluente:	DIL10
Volume campione o diluizione:	10 µL	Gain (guadagno):	3
Volume tampone di reazione:	250 µL	Diluizione calibratore	1:8
Volume sezione A:	40 µL	Diluizione campione:	1:50*
Volume sezione B:	0 µL	Tempo di reazione:	1.5 minuti
INFORMAZIONI SULLA CALIBRAZIONE			
		Livello calibratore	Impostazioni cal.
Livelli:	6	Livello 1 = Cal 2	
Replicati:	1	Livello 2 = Cal 3	
		Livello 3 = Cal 4	
		Livello 4 = Cal 5	
		Livello 5 = Cal 6	
		Livello 6 = Cal 7	

Parametri IMAGE per IgG2

INFORMAZIONI SUL PROTOCOLLO			
Nome chimico:	IgG2	Unità:	g/L
Lotto reagente:		Protocollo:	Nefelometrico non competitivo
Lotto cartuccia reagente:		Data di scadenza reagente:	
Numero serie cartuccia:			
Tampone:	BUF10	Diluente:	DIL10
Volume campione o diluizione:	30 µL	Gain (guadagno):	3
Volume tampone di reazione:	240 µL	Diluizione calibratore	1:5
Volume sezione A:	50 µL	Diluizione campione:	1:30*
Volume sezione B:	0 µL	Tempo di reazione:	2.5 minuti
INFORMAZIONI SULLA CALIBRAZIONE			
		Livello calibratore	Impostazioni cal.
Livelli:	7	Livello 1 = Cal 1	
Replicati:	1	Livello 2 = Cal 2	
		Livello 3 = Cal 3	
		Livello 4 = Cal 4	
		Livello 5 = Cal 5	
		Livello 6 = Cal 6	
		Livello 7 = Cal 7	

Parametri IMAGE per IgG3

INFORMAZIONI SUL PROTOCOLLO			
Nome chimico:	IgG3 lattice	Unità:	g/L
Lotto reagente:		Protocollo:	NIPIA non competitivo
Lotto cartuccia reagente:		Data di scadenza reagente:	
Numero serie cartuccia:			
Tampone:	BUF10	Diluente:	DIL10
Volume campione o diluizione:	4 µL	Gain (guadagno):	1
Volume tampone di reazione:	200 µL	Diluizione calibratore	1:5
Volume sezione A:	70 µL	Diluizione campione:	1:50*
Volume sezione B:	0 µL	Tempo di reazione:	1.5 minuti
INFORMAZIONI SULLA CALIBRAZIONE			
		Livello calibratore	Impostazioni cal.
Livelli:	6	Livello 1 = Cal 2	
Replicati:	1	Livello 2 = Cal 3	
		Livello 3 = Cal 4	
		Livello 4 = Cal 5	
		Livello 5 = Cal 6	
		Livello 6 = Cal 7	

Parametri IMAGE per IgG4

INFORMAZIONI SUL PROTOCOLLO			
Nome chimico:	IgG4 lattice	Unità:	g/L
Lotto reagente:		Protocollo:	NIPIA non competitivo
Lotto cartuccia reagente:		Data di scadenza reagente:	
Numero serie cartuccia:			
Tampone:	BUF10	Diluente:	DIL10
Volume campione o diluizione:	7 µL	Gain (guadagno):	1
Volume tampone di reazione:	195 µL	Diluizione calibratore	1:5
Volume sezione A:	70 µL	Diluizione campione:	1:50*
Volume sezione B:	0 µL	Tempo di reazione:	1.5 minuti
INFORMAZIONI SULLA CALIBRAZIONE			
		Livello calibratore	Impostazioni cal.
Livelli:	7	Livello 1 = Cal 1	
Replicati:	1	Livello 2 = Cal 2	
		Livello 3 = Cal 3	
		Livello 4 = Cal 4	
		Livello 5 = Cal 5	
		Livello 6 = Cal 6	
		Livello 7 = Cal 7	

Parametri IMMAGE 800 per IgG1

INFORMAZIONI SUL PROTOCOLLO			
Nome chimico:	IgG1	Unità:	g/L
Lotto reagente:		Protocollo:	Nefelometria non competitiva
Lotto cartuccia reagente:		Data di scadenza reagente:	
Numero serie cartuccia:		Test per cartuccia AGXS abilitato:	<input type="checkbox"/>
Limite AGXS:		Tampone:	BUF1
		Diluyente:	DIL1
Volume campione o diluizione:	10 µL	Gain (guadagno):	3
Volume tampone di reazione:	250 µL	Diluizione calibratore:	1:8
Volume sezione A:	40 µL	Diluizione campione:	1:50*
Volume sezione B:	0 µL	Tempo di reazione:	1.5 minuti
INFORMAZIONI SULLA CALIBRAZIONE			
		Livello calibratore	Impostazioni cal.
Livelli:	6	Livello 1 = Cal 2	
Replicati:	1	Livello 2 = Cal 3	
		Livello 3 = Cal 4	
Stato aggiornamento:	4**	Livello 4 = Cal 5	
Replicati:	1**	Livello 5 = Cal 6	
		Livello 6 = Cal 7	

Parametri IMMAGE 800 per IgG2

INFORMAZIONI SUL PROTOCOLLO			
Nome chimico:	IgG2	Unità:	g/L
Lotto reagente:		Protocollo:	Nefelometrico non competitivo
Lotto cartuccia reagente:		Data di scadenza reagente:	
Numero serie cartuccia:		Test per cartuccia AGXS abilitato:	<input type="checkbox"/>
Limite AGXS:		Tampone:	BUF1
		Diluyente:	DIL1
Volume campione o diluizione:	30 µL	Gain (guadagno):	3
Volume tampone di reazione:	240 µL	Diluizione calibratore:	1:5
Volume sezione A:	50 µL	Diluizione campione:	1:30*
Volume sezione B:	0 µL	Tempo di reazione:	2.5 minuti
INFORMAZIONI SULLA CALIBRAZIONE			
		Livello calibratore	Impostazioni cal.
Livelli:	7	Livello 1 = Cal 1	
Replicati:	1	Livello 2 = Cal 2	
		Livello 3 = Cal 3	
Stato aggiornamento:	4**	Livello 4 = Cal 4	
Replicati:	1**	Livello 5 = Cal 5	
		Livello 6 = Cal 6	
		Livello 7 = Cal 7	

Parametri IMMAGE 800 per IgG3

INFORMAZIONI SUL PROTOCOLLO			
Nome chimico:	IgG3 lattice	Unità:	g/L
Lotto reagente:		Protocollo:	NIPIA non competitivo
Lotto cartuccia reagente:		Data di scadenza reagente:	
Numero serie cartuccia:		Test per cartuccia AGXS abilitato:	<input type="checkbox"/>
Limite AGXS:		Tampone:	BUF3
		Diluyente:	DIL1
Volume campione o diluizione:	4 µL	Gain (guadagno):	1
Volume tampone di reazione:	200 µL	Diluizione calibratore:	1:5
Volume sezione A:	70 µL	Diluizione campione:	1:50*
Volume sezione B:	0 µL	Tempo di reazione:	1.5 minuti
INFORMAZIONI SULLA CALIBRAZIONE			
		Livello calibratore	Impostazioni cal.
Livelli:	6	Livello 1 = Cal 2	
Replicati:	1	Livello 2 = Cal 3	
		Livello 3 = Cal 4	
Stato aggiornamento:	4**	Livello 4 = Cal 5	
Replicati:	1**	Livello 5 = Cal 6	
		Livello 6 = Cal 7	

Parametri IMMAGE 800 per IgG4

INFORMAZIONI SUL PROTOCOLLO			
Nome chimico:	IgG4 lattice	Unità:	g/L
Lotto reagente:		Protocollo:	NIPIA non competitivo
Lotto cartuccia reagente:		Data di scadenza reagente:	
Numero serie cartuccia:		Test per cartuccia AGXS abilitato:	<input type="checkbox"/>
Limite AGXS:		Tampone:	BUF3
		Diluyente:	DIL1
Volume campione o diluizione:	7 µL	Gain (guadagno):	1
Volume tampone di reazione:	195 µL	Diluizione calibratore:	1:5
Volume sezione A:	70 µL	Diluizione campione:	1:50*
Volume sezione B:	0 µL	Tempo di reazione:	1.5 minuti
INFORMAZIONI SULLA CALIBRAZIONE			
		Livello calibratore	Impostazioni cal.
Livelli:	7	Livello 1 = Cal 1	
Replicati:	1	Livello 2 = Cal 2	
		Livello 3 = Cal 3	
Stato aggiornamento:	4**	Livello 4 = Cal 4	
Replicati:	1**	Livello 5 = Cal 5	
		Livello 6 = Cal 6	
		Livello 7 = Cal 7	

* Quando si utilizza per la prima volta una cartuccia UDR il campo "Diluizione campione" mostra automaticamente lo stesso valore del campo "Diluizione calibratore". Per analizzare un campione a una diluizione diversa da quella del calibratore, si deve prima calibrare e approvare il parametro chimico. Solo a questo punto è possibile inserire la diluizione del campione come indicato.

** I clienti devono SEMPRE eseguire una curva di calibrazione completa perché il kit non è stato sviluppato per una calibrazione a punto singolo.

Interpretazione

- I risultati sono calcolati automaticamente dal sistema.
- Le concentrazioni delle sottoclassi di IgG nei sieri di controllo devono ricadere negli intervalli illustrati nella tabella 3 del foglietto illustrativo accluso. Se un risultato non ricade nell'intervallo illustrato nella tabella 3, misurare nuovamente il controllo relativo usando una nuova diluizione. Se il risultato deviato è confermato, stabilire una nuova curva di calibrazione. Nel caso in cui i risultati del controllo non siano validi, non pubblicare i risultati relativi al paziente.
- Per verificare un possibile eccesso di antigene, sommare le quattro sottoclassi di IgG e confrontare questo valore con la concentrazione totale di IgG misurata con il reagente anti-IgG. La somma delle quattro sottoclassi di IgG dovrebbe essere uguale alla concentrazione totale di IgG \pm 15%. Se la somma di tutte le sottoclassi ricade all'esterno dell'intervallo del 15% rispetto al valore totale delle IgG, effettuare nuovamente il test utilizzando diluizioni diverse.
- Per una valutazione delle concentrazioni delle sottoclassi di IgG in un campione, confrontare i livelli riscontrati con i valori normali delle sottoclassi di IgG (vedere **Intervalli di riferimento**).

Intervalli dell'analisi

Gli intervalli e la sensibilità delle misurazioni dipendono dalla concentrazione di analiti nel calibratore. Per gli intervalli d'analisi specifici per il kit, consultare la tabella 2 del foglietto illustrativo accluso.

Sottoclasse IgG	Intervallo approssimativo di misurazione iniziale		Sensibilità approssimativa	
	Concentrazione (g/L)	Diluizione del campione	Concentrazione (g/L)	Diluizione del campione
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

Intervalli di riferimento

Intervalli di riferimento (g/L) relativi alle sottoclassi di IgG in campioni di siero di individui caucasici sani (dati interni Sanquin, 10, 12). Per altre popolazioni utilizzare intervalli di riferimento diversi.

Età	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
1 - 6 mesi	1,8 - 7,0	0,34 - 2,1	0,14 - 0,80	0,017 - 0,36
6 - 12 mesi	2,0 - 7,7	0,34 - 2,3	0,15 - 0,97	0,012 - 0,43
1 - 1½ anni	2,5 - 8,2	0,38 - 2,4	0,15 - 1,07	0,011 - 0,62
1½ - 2 anni	2,9 - 8,5	0,45 - 2,6	0,15 - 1,13	0,011 - 0,79
2 - 3 anni	3,2 - 9,0	0,52 - 2,8	0,14 - 1,20	0,012 - 1,06
3 - 4 anni	3,5 - 9,4	0,63 - 3,0	0,13 - 1,26	0,015 - 1,27
4 - 6 anni	3,7 - 10,0	0,72 - 3,4	0,13 - 1,33	0,017 - 1,58
6 - 9 anni	4,0 - 10,8	0,85 - 4,1	0,13 - 1,42	0,023 - 1,89
9 - 12 anni	4,0 - 11,5	0,98 - 4,8	0,15 - 1,49	0,030 - 2,10
12 - 18 anni	3,7 - 12,8	1,06 - 6,1	0,18 - 1,63	0,035 - 2,30
> 18 anni	4,9 - 11,4	1,50 - 6,4	0,20 - 1,10	0,080 - 1,40

Specifiche

a. Riproducibilità

		Precisione intra-analisi				Precisione inter-analisi				Precisione totale			
		siero 1	siero 2	siero 3	siero 4	siero 1	siero 2	siero 3	siero 4	siero 1	siero 2	siero 3	siero 4
IgG1	Conc (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
	cv (%)	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
	giorni	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	lotti									2	2	2	2
IgG2	Conc (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
	cv (%)	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
	giorni	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	lotti									1	1	1	1
IgG3	Conc (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
	cv (%)	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
	giorni	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	lotti									3	3	3	3
IgG4	Conc (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
	cv (%)	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
	giorni	1	1	1	1	5	5	5	5	15	15	15	15
	lotti									3	3	3	3

È stato usato CLSI/NCLLS EP5-A2.

b. Confronto tra il kit PeliClass™ human IgG subclass e il kit PeliClass™ human IgG subclass Plus (x rispetto a y)

Le concentrazioni di IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 nei sieri sono state determinate usando questo kit e sono state confrontate con i valori corrispondenti trovati con il kit PeliClass human IgG subclass (RIF. M1775). Il metodo usato per il confronto era la regressione di Passing e Bablok. È stato usato CLSI/NCLLS EP9-A2. Sono state stabilite le seguenti correlazioni:

Sottoclasse IgG	Pendenza	Intervallo di confidenza	Intercetta (g/L)	Intervallo di confidenza	n	Correlazione
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
Somma	1,01	1,00 - 1,03	0,06	-0,08 - 0,21	95	1,00

c. Variazioni tra diversi lotti del kit PeliClass™ human IgG subclass Plus

Le concentrazioni di IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 nei sieri sono state determinate usando diversi lotti di reagenti. Il metodo usato per il confronto era la regressione di Passing e Bablok. È stato usato CLSI/NCLLS EP9-A2. Sono state stabilite le seguenti correlazioni:

Sottoclasse IgG	Pendenza	Intervallo di confidenza	Intercetta (g/L)	Intervallo di confidenza	n	Correlazione
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. Somma sottoclassi verso IgG totali

$y = 1,07x - 0,15$ (g/L). Dove $x =$ IgG totali e $y =$ somma delle sottoclassi di IgG
Coefficiente di correlazione = 0,0991 e $n = 38$.

e. Interferenze

Sono state valutate le possibili interferenze ai saggi delle sottoclassi di IgG usando CLSI/NCCLS EP7-A2.

Sono state testate le seguenti sostanze alle concentrazioni indicate sotto e gli effetti sono risultati inferiori al 10%. Per ogni sottoclasse di IgG sono state testate due concentrazioni: IgG1 2,6 – 6,4 g/L, IgG2 1,6 – 3,6 g/L, IgG3 0,188 – 0,423 g/L e IgG4 0,277 – 0,552 g/L.

Sostanza	Concentrazione analizzata
Albumina	60 g/L
Bilirubina (coniugata)	20 mg/dL
Bilirubina (non coniugata)	20 mg/dL
Emoglobina	2 g/L
Fattore reumatoide	50 UI/mL
Trigliceridi	37 mmol/L*

*: I saggi su IgG1, IgG3 e IgG4 non hanno dimostrato alcuna interferenza da parte dei trigliceridi. Per IgG2 non è stata rilevata alcuna interferenza solo dopo centrifugazione del campione.

Attenzione:

I valori citati per le caratteristiche specifiche di funzionamento del test rappresentano risultati tipici e non devono essere interpretate come specifiche del kit.

Limitazioni

- L'utente deve essere istruito e deve familiarizzare con lo strumento, con la procedura UDR e con la procedura del test.
- Si possono ottenere risultati inattesi su campioni contenenti le sostanze citate al punto **Specifiche e.** a livelli maggiori di quelli analizzati e su campioni contenenti immunoglobuline monoclonali o immunocomplessi circolanti. Questi campioni devono essere analizzati con un altro metodo.
- Effettuare la manutenzione in conformità a quanto descritto nel manuale. Utilizzare solo uno strumento totalmente attrezzato.
- Un risultato che evidenzia un livello ridotto di una delle sottoclassi di IgG non può mai considerarsi una diagnosi definitiva. Al contrario, esso deve essere considerato l'indicazione di un disturbo a carico del sistema immunitario che richiede ulteriori indagini diagnostiche.
- Sebbene le curve di calibrazione restino stabili per 1 mese, è sempre necessario verificarne la validità con i sieri di controllo. Quando un controllo ricade all'esterno dell'intervallo di riferimento, eseguire una nuova curva di calibrazione.
- Eseguire una nuova curva di calibrazione per ogni nuovo lotto.
- Non usare alcun materiale dopo la data di scadenza riportata sull'etichetta.
- I reagenti di lotti diversi non sono interscambiabili.
- Non miscelare residui di reagenti (ad es. volume morto) con il contenuto di flaconcini appena aperti.
- I tappi e i flaconcini non sono interscambiabili. Rimettere i tappi sui flaconcini corrispondenti.
- Determinare sempre la concentrazione totale di IgG e confrontarla con la somma delle sottoclassi per evidenziare un eventuale eccesso di antigene.
- Non utilizzare i componenti del kit in uno strumento diverso da quello specificato sull'etichetta.
- Non utilizzare impostazioni del sistema diverse da quelle specificate.

Referenze

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

Si garantisce che i prodotti Sanquin daranno i risultati indicati nelle istruzioni d'uso del fabbricante originario. È essenziale attenersi rigorosamente a queste indicazioni circa le procedure e layout di prova e utilizzare i reagenti e le apparecchiature raccomandate. Sanquin declina ogni responsabilità per eventuali conseguenze derivanti dalla mancata osservanza di queste norme.