

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 (pt)		<i>Exclusivamente para uso professional</i>

- Kit para determinação quantitativa das subclasses de IgG humana no soro e plasma nos dispositivos Beckman IMMAGE® / IMMAGE 800®

CAL	CONTROL	NEPH	NEPH/NIPIA	NIPIA	ORG	≥-≤
Calibrador	Controlo	Nefelometria	Nefelometria / NIPIA	NIPIA	Origem	Intervalo

Informação geral

A IgG humana compreende quatro subclasses: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. As características bioquímicas das subclasses de IgG foram extensamente descritas (1-5). As diferenças entre as subclasses de IgG reflectem-se em várias funções biologicamente importantes, como o reconhecimento de antigénios, a activação de complementos e a ligação a receptores da superfície celular. Muitos estudos revelaram que as anomalias nos níveis séricos das subclasses de IgG poderão estar associadas a vários estados de doença (6). Em particular, a associação entre a deficiência selectiva na subclasse IgG2 e a susceptibilidade aumentada a infecções virais ou bacterianas foi amplamente documentada (4, 5). Registaram-se baixos níveis séricos de IgG2 ou IgG3 em doentes com infecções recorrentes do tracto respiratório superior e inferior. Outros autores encontraram uma associação entre as concentrações séricas muito baixas de IgG4 e as infecções recorrentes sino-pulmonares (7). Também se observaram anomalias nos níveis séricos das subclasses de IgG em doenças auto-imunes, perturbações neurológicas e infecções pelo VIH (4, 6).

Princípio do teste

O kit PeliClass™ Plus para determinação de IgG humanas foi concebido para uma quantificação rápida, reprodutível e específica das subclasses de IgG humana (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4).

A determinação nefelométrica de IgG1 e IgG2 no soro baseia-se na reacção específica com um anti-soro da subclasse anti-IgG, monoespecífico, altamente ávido. A determinação turbidimétrica da IgG3 e IgG4 no soro baseia-se na reacção específica com um reagente de látex revestido com anticorpos da subclasse anti-IgG monoespecíficos, altamente ávidos, para uma maior sensibilidade analítica.

Os soros de ovelha fraccionados da subclasse IgG anti-humana são produzidos de modo específico para absorção com gamaglobulinas isoladas das subclasses de IgG não pretendidas e, se necessário, por absorção com fracções séricas isoladas (8-10). Os reagentes policlonais deste kit são específicos para as subclasses de IgG humana e foram seleccionados para uma avidéz elevada. As quantificações nefelométricas e turbidimétricas baseiam-se na geração de complexos imunológicos, quantificados pela medição da luz difundida e da luz que atravessa, respectivamente. As concentrações da subclasse de IgG nas amostras de teste são determinadas por comparação com uma curva de referência, obtida com os calibradores da subclasse de IgG fornecidos.

Os soros de controlo da subclasse de IgG são ensaiados para verificar a validade das curvas de referência e a exactidão das determinações da subclasse de IgG.

Os níveis da subclasse de IgG nos calibradores foram determinados utilizando o ERM-DA470 como calibrador. Os valores atribuídos são de 6,21 g/L para IgG1, 3,45 g/L para IgG2, 0,390 g/L para IgG3 e 0,591 g/L para IgG4, e são derivados da norma WHO 67/97 (11).

Conservação e estabilidade

Todos os componentes são estáveis até ao prazo de validade referido no rótulo quando conservados a uma temperatura de 2-8°C. As condições de transporte poderão diferir das condições de conservação. Não congele os reagentes de látex IgG3 e IgG4.

Após a abertura, e com conservação a 2-8°C, os componentes são estáveis durante 1 mês, tendo em consideração o prazo de validade referido no rótulo.

Devolva os componentes a uma temperatura de 2-8°C após a conclusão das tarefas diárias.

Volte a colocar as tampas de evaporação com as tampas de rosca antes de guardar os cartuchos de reagentes.

As curvas de calibração são estáveis durante pelo menos 1 mês, mas devem sempre utilizar-se os soros de controlo para verificar a validade das curvas de calibração.

Conteúdo da embalagem

O kit PeliClass™ Plus para determinação das subclasses de IgG humana permite a determinação quantitativa das quatro subclasses de IgG humana em 50 testes, incluindo calibradores e controlos. Todos os componentes referidos na primeira página deste folheto informativo podem ser encomendados separadamente.

Anticorpos de ovelha anti-IgG1 humana	1x 2.4 mL	REF M1891
Anticorpos de ovelha anti-IgG2 humana	1x 2.9 mL	REF M1892
Anticorpos de ovelha anti-IgG3 humana potenciados com látex	1x 4.0 mL	REF M1893
Anticorpos de ovelha anti-IgG4 humana potenciados com látex	1x 4.0 mL	REF M1894
Conjunto de calibrador de subclasse de IgG humana	7x 1.0 mL	REF M1896
Controlo 1 para subclasse de IgG humana	1x 1.0 mL	REF M1897
Controlo 2 para subclasse de IgG humana	1x 1.0 mL	REF M1898

Os anti-soros IgG1 e IgG2 são soros de ovelha líquidos específicos.

Os reagentes de látex IgG3 e IgG4 são uma suspensão de partículas de polistireno revestidas com anticorpos de ovelha específicos.

Os calibradores e controlos são soros humanos líquidos. Conservante: NaN₃ 0,1 % (p/v).

Materiais e/ou equipamentos adicionais

- Sistema de Imunoquímica Beckman Coulter IMMAGE® / IMMAGE 800®.
- Tampão 1 para Beckman Coulter IMMAGE®.
- Tampão 3 para Beckman Coulter IMMAGE®.
- Diluente 1 para Beckman Coulter IMMAGE®.
- Cartuchos de reagentes definidos pelo utilizador (*User Defined Reagent*, UDR) para Beckman Coulter IMMAGE®.
- Reagentes de Imunoglobulina G (IgG total) da Beckman Coulter.

Precauções

Os calibradores e controlos são soros humanos líquidos. Ainda que os soros humanos tenham sido testados quanto à presença de marcadores de agentes específicos transmissores de doenças, em conformidade com as linhas de orientação actuais da UE para BPF e se tenha verificado serem não-reactivos, todos os componentes de origem humana devem ser considerados como sendo potencialmente infecciosos. A eliminação de resíduos deve ser efectuada em conformidade com os seus regulamentos laboratoriais.

Não é de todo adequado assumir que os reagentes se encontram isentos de agentes infecciosos.

Todos os componentes são estáveis até ao prazo de validade referido no rótulo quando conservados a uma temperatura de 2-8°C. As condições de transporte poderão diferir das condições de conservação. Não congele os reagentes de látex IgG3 e IgG4.

Manuseamento das amostras de teste

Podem testar-se soro e plasma (EDTA e Na-heparina). As amostras devem ser tão frescas quanto possível ou estar conservadas a 2-8°C. Se as amostras não forem ensaiadas no prazo de 1 semana, devem ser conservadas congeladas a uma temperatura de -18°C a -30°C, e podem ser guardadas até 3 meses. Os ciclos de congelação-descongelação repetidos podem deteriorar o analito. As amostras lipémicas ou turvas têm de ser clarificadas por centrifugação antes do teste. As amostras que não conseguirem ser clarificadas não devem ser utilizadas. As amostras não devem ser diluídas manualmente antes da utilização, a menos que haja indicação em contrário.

Procedimento de teste

Os reagentes de látex exigem a lavagem adicional das cuvetes, seleccionando "Utilities" (Utilitários) na barra de menu IMAGE, e seguidamente a opção 7: "Wash Cuvettes" (Lavar cuvetes). Lavar as cuvetes 1x antes de testar com reagentes de látex e lavar as cuvetes 1x após a utilização. Caso sejam realizados mais de 39 testes com látex sucessivamente, repetir este procedimento.

- 1 Deixar todos os componentes do kit e todas as amostras de teste ficar à temperatura ambiente (18-25°C) e agitar cuidadosamente antes da utilização. Evitar a formação de bolhas ou espuma.
- 2 Preparar as curvas de referência para as subclasses de IgG utilizando os calibradores prontos a usar.
 - a) **Nos reagentes definidos pelo utilizador (UDR) da IMAGE®, só podem seleccionar-se BUF10 e DIL10. Os anti-soros IgG1 e IgG2 utilizam BUF1, enquanto os reagentes de látex de IgG3 e IgG4 utilizam BUF3. Consequentemente, estes testes devem ser realizados em lotes consoante o tampão. Trocar de tampão ao mudar dos anti-soros IgG1 e IgG2 para os reagentes de látex IgG3 e IgG4, e vice-versa. Os testes das quatro subclasses utilizam DIL1 como diluente. No IMAGE 800®, podem seleccionar-se tampões da Beckman para os UDR.**
 - b) Introduzir os parâmetros para os protocolos de ensaio das quatro subclasses de IgG, conforme indicado a seguir (cf. advertência (*) abaixo dos esquemas). No IMAGE®, devem seleccionar-se BUF10 e DIL10 a partir das opções de estado dos reagentes.
 - c) Introduzir as concentrações das subclasses de IgG dos calibradores prontos a usar. As concentrações das subclasses de IgG nos vários calibradores encontram-se resumidas na Tabela 2 do folheto informativo incluso.
 - d) Rotular os quatro cartuchos UDR, certificando-se de que código de barras UDR não fica tapado. Transferir os anti-soros e os reagentes de látex dos frascos para o compartimento A dos respectivos cartuchos atribuídos e cobrir com as tampas de evaporação. Colocar os cartuchos no compartimento do reagente.
 - e) Carregar os calibradores nos copos das amostras, colocá-los nos suportes de amostras e carregá-los no carrossel de amostras. Nota: nem todos os soros de calibradores são utilizados para todas as determinações de subclasses de IgG (ver a Tabela 2 do folheto informativo incluso).
Nota: Ao correr em conjunto ensaios de subclasses de IgG, o conjunto de calibrador pode ser carregado quatro vezes em quatro suportes de amostras diferentes ou as calibrações podem ser realizadas em sucessão.
 - f) Começar a medição das curvas de referência. As curvas de referência são calculadas no ecrã de aprovação de calibração utilizando a adequação polinomial de terceira ordem.
 - g) Após a aprovação das curvas de referência, a amostra de diluição do protocolo de ensaio tem de ser mudada para a diluição especificada (ver os esquemas).
 - h) Utilizar os soros de controlo para verificar a validade das curvas de referência. Os soros de controlo devem ser ensaiados e avaliados da mesma forma que as amostras de teste. As curvas de referência são válidas desde que os controlos sejam reproduzidos nos intervalos respectivos, referidos na Tabela 3 do folheto informativo incluso.
- 3 Carregar as amostras de teste para as determinações da subclasse de IgG. Ensaiar as amostras. O sistema dilui automaticamente as amostras de teste de acordo com a diluição programada. Para os resultados elevados fora do intervalo (*out of range high*, ORHI), o teste deve ser repetido para IgG2 com uma diluição superior da amostra (1:50) ou para IgG1, IgG3 e IgG4 com diluição manual da amostra. Os resultados baixos fora do intervalo (*out of range low*, ORLO) devem ser novamente medidos numa diluição da amostra de 1:5 para IgG3 e IgG4 ou não devem ser medidos em outra diluição para IgG1 e IgG2.
- 4 A exactidão e precisão das determinações de subclasse de IgG podem ser verificadas repetindo a determinação da subclasse de IgG nos soros de controlo 1 e 2.
- 5 Após a utilização, os reagentes não devem ser deixados no IMAGE® / IMAGE 800®. Fechar bem os cartuchos, com a tampa de rosca, e conservar a 2-8°C.

Parâmetros de IgG1 IMAGE

<u>INFORMAÇÃO DO PROTOCOLO</u>			
Designação química:	IgG1	Unidades:	g/L
Lote de reagente:		Protocolo:	Nefelométrico não competitivo
Lote do cartucho de reagente:		Prazo de validade do reagente:	
N.º de série do cartucho de reagente:			
Tampão:	BUF10	Diluyente:	DIL10
Amostra ou volume de diluição:	10 µL	Ganho:	3
Volume de tampão da reacção:	250 µL	Diluição do calibrador	1:8
Volume do compartimento A:	40 µL	Diluição da amostra:	1:50*
Volume do compartimento B:	0 µL	Tempo de reacção:	1,5 minuto
<u>INFORMAÇÃO DE CALIBRAÇÃO</u>			
		<u>Nível de calibrador</u>	<u>Ponto definido de calibrador</u>
Níveis:	6	Nível 1 = Cal 2	
Réplicas:	1	Nível 2 = Cal 3	
		Nível 3 = Cal 4	
		Nível 4 = Cal 5	
		Nível 5 = Cal 6	
		Nível 6 = Cal 7	

Parâmetros de IgG2 IMAGE

<u>INFORMAÇÃO DO PROTOCOLO</u>			
Designação química:	IgG2	Unidades:	g/L
Lote de reagente:		Protocolo:	Nefelométrico não competitivo
Lote do cartucho de reagente:		Prazo de validade do reagente:	
N.º de série do cartucho de reagente:			
Tampão:	BUF10	Diluyente:	DIL10
Amostra ou volume de diluição:	30 µL	Ganho:	3
Volume de tampão da reacção:	240 µL	Diluição do calibrador	1:5
Volume do compartimento A:	50 µL	Diluição da amostra:	1:30*
Volume do compartimento B:	0 µL	Tempo de reacção:	2,5 minutos
<u>INFORMAÇÃO DE CALIBRAÇÃO</u>			
		<u>Nível de calibrador</u>	<u>Ponto definido de calibrador</u>
Níveis:	7	Nível 1 = Cal 1	
Réplicas:	1	Nível 2 = Cal 2	
		Nível 3 = Cal 3	
		Nível 4 = Cal 4	
		Nível 5 = Cal 5	
		Nível 6 = Cal 6	
		Nível 7 = Cal 7	

Parâmetros de IgG3 IMAGE

<u>INFORMAÇÃO DO PROTOCOLO</u>			
Designação química:	IgG3 Látex	Unidades:	g/L
Lote de reagente:		Protocolo:	NIPIA não competitivo
Lote do cartucho de reagente:		Prazo de validade do reagente:	
N.º de série do cartucho de reagente:			
Tampão:	BUF10	Diluyente:	DIL10
Amostra ou volume de diluição:	4 µL	Ganho:	1
Volume de tampão da reacção:	200 µL	Diluição do calibrador	1:5
Volume do compartimento A:	70 µL	Diluição da amostra:	1:50*
Volume do compartimento B:	0 µL	Tempo de reacção:	1,5 minuto
<u>INFORMAÇÃO DE CALIBRAÇÃO</u>			
		<u>Nível de calibrador</u>	<u>Ponto definido de calibrador</u>
Níveis:	6	Nível 1 = Cal 2	
Réplicas:	1	Nível 2 = Cal 3	
		Nível 3 = Cal 4	
		Nível 4 = Cal 5	
		Nível 5 = Cal 6	
		Nível 6 = Cal 7	

Parâmetros de IgG4 IMAGE

<u>INFORMAÇÃO DO PROTOCOLO</u>			
Designação química:	IgG4 Látex	Unidades:	g/L
Lote de reagente:		Protocolo:	NIPIA não competitivo
Lote do cartucho de reagente:		Prazo de validade do reagente:	
N.º de série do cartucho de reagente:			
Tampão:	BUF10	Diluyente:	DIL10
Amostra ou volume:	7 µL	Ganho:	1
Volume de tampão da reacção:	195 µL	Diluição do calibrador	1:5
Volume do compartimento A:	70 µL	Diluição da amostra:	1:50*
Volume do compartimento B:	0 µL	Tempo de reacção:	1,5 minuto
<u>INFORMAÇÃO DE CALIBRAÇÃO</u>			
		<u>Nível de calibrador</u>	<u>Ponto definido de calibrador</u>
Níveis:	7	Nível 1 = Cal 1	
Réplicas:	1	Nível 2 = Cal 2	
		Nível 3 = Cal 3	
		Nível 4 = Cal 4	
		Nível 5 = Cal 5	
		Nível 6 = Cal 6	
		Nível 7 = Cal 7	

Parâmetros de IgG1 IMAGE 800

INFORMAÇÃO DO PROTOCOLO			
Designação química:	IgG1	Unidades:	g/L
Lote de reagente:		Protocolo:	Nefelométrico não competitivo
Lote do cartucho de reagente:		Prazo de validade do reagente:	
N.º de série do cartucho de reagente:		Testes por cartucho:	
Limite AGXS:		AGXS activado:	<input type="checkbox"/>
Tampão:	BUF1	Diluyente:	DIL1
Amostra ou volume de diluição:	10 µL	Ganho:	3
Volume de tampão da reacção:	250 µL	Diluição do calibrador	1:8
Volume do compartimento A:	40 µL	Diluição da amostra:	1:50*
Volume do compartimento B:	0 µL	Tempo de reacção:	1,5 minuto
INFORMAÇÃO DE CALIBRAÇÃO			
		Nível de calibrador	<u>Ponto definido de calibrador</u>
Níveis:	6	Nível 1 = Cal 2	
Réplicas:	1	Nível 2 = Cal 3	
		Nível 3 = Cal 4	
Nível de actualização:	4**	Nível 4 = Cal 5	
Réplicas:	1**	Nível 5 = Cal 6	
		Nível 6 = Cal 7	

Parâmetros de IgG2 IMAGE 800

INFORMAÇÃO DO PROTOCOLO			
Designação química:	IgG2	Unidades:	g/L
Lote de reagente:		Protocolo:	Nefelométrico não competitivo
Lote do cartucho de reagente:		Prazo de validade do reagente:	
N.º de série do cartucho de reagente:		Testes por cartucho:	
Limite AGXS:		AGXS activado:	<input type="checkbox"/>
Tampão:	BUF1	Diluyente:	DIL1
Amostra ou volume de diluição:	30 µL	Ganho:	3
Volume de tampão da reacção:	240 µL	Diluição do calibrador	1:5
Volume do compartimento A:	50 µL	Diluição da amostra:	1:30*
Volume do compartimento B:	0 µL	Tempo de reacção:	2,5 minutos
INFORMAÇÃO DE CALIBRAÇÃO			
		Nível de calibrador	<u>Ponto definido de calibrador</u>
Níveis:	7	Nível 1 = Cal 1	
Réplicas:	1	Nível 2 = Cal 2	
		Nível 3 = Cal 3	
Nível de actualização:	4**	Nível 4 = Cal 4	
Réplicas:	1**	Nível 5 = Cal 5	
		Nível 6 = Cal 6	
		Nível 7 = Cal 7	

Parâmetros de IgG3 IMAGE 800

INFORMAÇÃO DO PROTOCOLO			
Designação química:	IgG3 Látex	Unidades:	g/L
Lote de reagente:		Protocolo:	NIPIA não competitivo
Lote do cartucho de reagente:		Prazo de validade do reagente:	
N.º de série do cartucho de reagente:		Testes por cartucho:	
Limite AGXS:		AGXS activado:	<input type="checkbox"/>
Tampão:	BUF3	Diluyente:	DIL1
Amostra ou volume de diluição:	4 µL	Ganho:	1
Volume de tampão da reacção:	200 µL	Diluição do calibrador	1:5
Volume do compartimento A:	70 µL	Diluição da amostra:	1:50*
Volume do compartimento B:	0 µL	Tempo de reacção:	1,5 minuto
INFORMAÇÃO DE CALIBRAÇÃO			
		<u>Ponto definido de calibrador</u>	<u>Ponto definido de calibrador</u>
Níveis:	6	Nível 1 = Cal 2	
Réplicas:	1	Nível 2 = Cal 3	
		Nível 3 = Cal 4	
Nível de actualização:	4**	Nível 4 = Cal 5	
Réplicas:	1**	Nível 5 = Cal 6	
		Nível 6 = Cal 7	

Parâmetros de IgG4 IMAGE 800

INFORMAÇÃO DO PROTOCOLO			
Designação química:	IgG4 Látex	Unidades:	g/L
Lote de reagente:		Protocolo:	NIPIA não competitivo
Lote do cartucho de reagente:		Prazo de validade do reagente:	
N.º de série do cartucho de reagente:		Testes por cartucho:	
Limite AGXS:		AGXS activado:	<input type="checkbox"/>
Tampão:	BUF3	Diluyente:	DIL1
Amostra ou volume de diluição:	7 µL	Ganho:	1
Volume de tampão da reacção:	195 µL	Diluição do calibrador	1:5
Volume do compartimento A:	70 µL	Diluição da amostra:	1:50*
Volume do compartimento B:	0 µL	Tempo de reacção:	1,5 minuto
INFORMAÇÃO DE CALIBRAÇÃO			
		Nível de calibrador	<u>Ponto definido de calibrador</u>
Níveis:	7	Nível 1 = Cal 1	
Réplicas:	1	Nível 2 = Cal 2	
		Nível 3 = Cal 3	
Nível de actualização:	4**	Nível 4 = Cal 4	
Réplicas:	1**	Nível 5 = Cal 5	
		Nível 6 = Cal 6	
		Nível 7 = Cal 7	

* Quando um cartucho UDR é utilizado pela primeira vez, o campo "Diluição da amostra" apresenta automaticamente o mesmo valor do que o campo "Diluição Cal". Para testar uma amostra com uma diluição diferente da do calibrador, as propriedades químicas têm de ser previamente calibradas e aprovadas. Só então é que a diluição da amostra poderá ser introduzida da forma indicada.

** Uma vez que este kit não foi desenvolvido para calibração de ponto isolado, os consumidores devem SEMPRE realizar uma curva de calibração completa.

Interpretação

- Os resultados são calculados automaticamente pelo sistema.
- As concentrações da subclasse de IgG nos soros de controlo devem encontrar-se nos intervalos indicados na Tabela 3 do folheto informativo incluso. Se um resultado se encontrar fora do intervalo referido na Tabela 3, volte a medir o controlo específico utilizando uma nova diluição. Se o resultado desviado for confirmado, deve estabelecer-se uma nova curva de referência. Em caso de resultados de controlo inválidos, os resultados dos doentes não devem ser divulgados.
- Para verificar o possível excesso de antigénio, calcular a soma das quatro subclasses de IgG e comparar com a concentração total de IgG medida com um reagentes anti-IgG. A soma das quatro classes de IgG deve perfazer o total de IgG \pm 15%. Se a soma de todas as subclasses se encontrar fora do intervalo de 15% do valor total de IgG, devem correr-se novamente os testes utilizando diluições diferentes.
- Para uma avaliação das concentrações das subclasses de IgG numa amostra de teste, comparar os níveis encontrados com os valores normais para as subclasses de IgG (ver **Intervalos de referência**).

Intervalos do ensaio

A medição dos intervalos e da sensibilidade dependem da concentração de analitos no calibrador. Consultar a Tabela 2 do folheto informativo incluso para ver os intervalos do ensaio específicos do kit.

Subclasse de IgG	Intervalo de medição inicial aproximado		Sensibilidade aproximada	
	Concentração (g/L)	Diluição da amostra	Concentração (g/L)	Diluição da amostra
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

Intervalos de referência

Intervalos de referência (g/L) para subclasses de IgG em amostras séricas de indivíduos caucasianos saudáveis (dados internos Sanquin, 10, 12). Para outras populações, devem obter-se intervalos de referência distintos.

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

Especificações

a. Reprodutibilidade

		Precisão intra-testes				Precisão entre-testes				Precisão total			
		soro 1	soro 2	soro 3	soro 4	soro 1	soro 2	soro 3	soro 4	soro 1	soro 2	soro 3	soro 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
	dias	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	lotes									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
	dias	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	lotes									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
	dias	1	1	1	1	5	5	5	5	20	20	20	20
	lotes									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
	dias	1	1	1	1	5	5	5	5	15	15	15	15
	lotes									3	3	3	3

Foi utilizado CLSI/NCLLS EP5-A2.

b. Comparação entre o kit PeliClass™ para determinação de subclasses de IgG humana versus o kit PeliClass™ Plus para determinação de subclasses de IgG humana (x versus y)

Determinaram-se as concentrações de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 no soro utilizando este kit e compararam-se com os valores correspondentes encontrados com o kit PeliClass para determinação das subclasses de IgG humana (REF. M1775). O método utilizado para a comparação foi a regressão de Passing e Bablok. Foi utilizado CLSI/NCCLS-EP9-A2. Estabeleceram-se as seguintes correlações:

Subclasse de IgG	Declive	Intervalo de confiança	Intersecção (g/L)	Intervalo de confiança	n	Correlação
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
soma	1,01	1,00 - 1,03	0,06	-0,08 - 0,21	95	1,00

c. Variações de lote para lote do kit PeliClass™ Plus para determinação da subclasse de IgG humana

As concentrações de IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 no soro foram determinadas utilizando diferentes reagentes nos lotes. O método utilizado para a comparação foi a regressão de Passing e Bablok. Foi utilizado CLSI/NCCLS-EP9-A2. Estabeleceram-se as seguintes correlações:

Subclasse de IgG	Declive	Intervalo de confiança	Intersecção (g/L)	Intervalo de confiança	n	Correlação
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. Soma das subclasses versus IgG total

$y = 1,07x - 0,15$ (g/L). Onde $x =$ IgG total e $y =$ soma das subclasses.

Coefficiente de correlação = 0,991 e $n = 38$.

e. Interferências

Os ensaios da subclasse de IgG foram testados quanto às interferências, utilizando CLSI/NCCLS EP7-A2.

Foram testadas as seguintes substâncias, nas concentrações indicadas a seguir, e os efeitos são inferiores a 10%. Foram testadas duas concentrações por subclasse de IgG. 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.

Substância	Concentração no teste
Albumina	60 g/L
Bilirrubina (conjugada)	20 mg/dL
Bilirrubina (não conjugada)	20 mg/dL
Hemoglobina	2 g/L
Factor reumatóide	50 UI/ml
Triglicéridos	37 mmol/L*

*: Os ensaios de IgG1, IgG3 e IgG4 não mostraram interferências devido aos triglicéridos. Para a IgG2, só não se detectou interferência depois da centrifugação da amostra.

Nota:

Os valores citados para as características de desempenho específicas do teste representam resultados típicos e não devem ser considerados como especificações para este kit.

Limitações

1. O utilizador deve ter formação e estar familiarizado com o procedimento UDR dos instrumentos e com o procedimento de teste.
2. Podem obter-se resultados inesperados para amostras que contenham substâncias referidas no ponto XI.e a níveis mais elevados do que os testados e para amostras que contenham imunoglobulinas monoclonais ou complexos imunitários em circulação. Estas amostras devem ser analisadas por outro método.
3. Ter cuidado com a manutenção do instrumento em conformidade com o manual. Utilizar apenas um instrumento inteiramente equipado.
4. O achado de um nível diminuído de uma das subclasses de IgG nunca pode proporcionar um diagnóstico definitivo, devendo antes ser considerado como uma indicação de uma perturbação do sistema imunitário que necessita de exames complementares de diagnóstico adicionais.
5. Ainda que as curvas de referência permaneçam estáveis durante um mês, devem sempre utilizar-se soros de controlo para verificar a validade das curvas de referência. Quando um controlo se encontra fora do intervalo, terá de fazer-se uma nova curva de referência.
6. Com um novo lote, terá de fazer-se uma nova curva de referência.
7. Não utilizar nenhum material após o prazo de validade indicado no rótulo.
8. Os reagentes de lotes diferentes não são intercambiáveis.
9. Qualquer porção restante de reagentes (por ex. volume morto) não deve ser misturada com o conteúdo de frascos recém-abertos.
10. As tampas e os frascos não são intercambiáveis. As tampas devem ser repostas nos frascos correspondentes.
11. Determinar sempre a IgG total e comparar com a soma das subclasses como verificação para um possível excesso de antigénio.
12. Não utilizar os componentes do kit em outro instrumento que não o indicado nos rótulos.
13. Não utilizar outras configurações de sistema, diferentes das indicadas.

Referências

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).

Os produtos Sanquin têm garantia de desempenho conforme descrito nas instruções de utilização do fabricante original. É essencial uma adesão rigorosa aos procedimentos, configurações de teste, reagentes e equipamento recomendados. A Sanquin declina qualquer responsabilidade em caso de desvio em relação ao acima mencionado.