

^LIgG (Imunoglobulin G)

Diagnostická reagencie pro kvantitativní in vitro stanovení imunoglobulinu G (IgG) v séru nebo plazmě fotometricky.

Katalogové číslo:

BV 40020

150 ml (5 x 25 ml + 1 x 25 ml)

Shrnutí¹⁻³:

Třídy lidského imunoglobulinu (IgG, IgA, IgM, IgE a IgD) jsou skupinou funkčně a strukturálně těsně spjatých glykoproteinů. Lidský IgG má molekulovou hmotnost okolo 150 000 daltonů a skládá se ze dvou identických těžkých řetězců a dvou identických lehkých řetězců, které jsou spolu svázány disulfidickými vazbami v charakteristickém tvaru Y. IgG je produkován plazmovými buňkami (B buňky) a představuje asi 75 % všech tříd rozpustného imunoglobulinu. Hlavní funkcí IgG je vázat antigeny, které iniciují aktivaci komplementu, a spouštět další katabolismus antigenu.

Snížené koncentrace IgG se objevují u primárních, jakož i u sekundárních syndromů deficitu imunity. Zvýšená ztráta proteinů, způsobená nefrotickým syndromem, může mít za následek sníženou koncentraci IgG. Vysoké zvýšení jedné třídy imunoglobulinu, způsobené mnohočetným myelomem, může mít za následek pokles u jiných tříd imunoglobulinu, např. IgG. Zvýšené koncentrace IgG lze pozorovat u závažných infekčních onemocnění a u autoimunitních onemocnění. Četné formy myelomu produkují vysoká množství monoklonálního nebo polyklonálního IgG. Kvantitativní stanovení IgG je nezbytné pro diferenční diagnózu těchto onemocnění. Všechny metody kvantifikace IgG se kalibrují pro polyklonální IgG. Kvantifikace monoklonálního IgG není standardizována a hodnoty se u různých reagií a metod mohou lišit. Hodnoty by se měly používat pouze pro navazující studie. Monoklonální imunoglobulinémie vyžaduje podrobné vyšetření v rámci diferenční diagnózy jako další prvek kvantitativního stanovení.

Metoda:

Imunoturbidimetrické stanovení.

Princip:

Stanovení koncentrace IgG pomocí fotometrického měření je založeno na reakci antigen-protilátka mezi protilátkami proti lidskému IgG a IgG přítomnými ve vzorku.

Reagencie:

Složení a koncentrace:

R1:

Tris pufr	pH 7,5	100 mmol/l
NaCl		150 mmol/l
Polyethylenglykol (PEG)		
Detergenty a stabilizátory		

R2:

Tris pufr	pH 8,0	100 mmol/l
NaCl		300 mmol/l
Protilátka (koží) proti lidskému IgG		< 1%

Skladování a stabilita:

Diagnostické použití in vitro.

Reagencie, skladované při 2-8°C, jsou stabilní do konce deklarovaného data na balení. Zabránit kontaminaci. Reagencie nesmí zmraznout. Nutno chránit před světlem!

Příprava reakčních roztoků:

Činidla R1 a R2 jsou připravena k přímému použití a skladované při 2-8°C, jsou stabilní do konce deklarovaného data na balení. Reagencie nezamrazuje!

Další potřebné materiály:

NaCl roztok 9 g/l

Obecné laboratorní vybavení.

Vzorek:

Sérum, plazma (EDTA nebo heparin).

Stabilita⁴: 3 měsíce při 20–25°C

3 měsíce při 4–8°C

6 měsíců při –20°C

Vzorek nesmí být po rozmrazení opakovaně zmrazen. Nutno zabránit kontaminaci vzorku.

Pracovní postup:

Aplikace pro automatické analyzátory je dostupná na vyžádání.

Vlnová délka: 570 nm

Kyveta: 1 cm

Teplota: 37°C

Měření: proti reagenčnímu blanku

	Vzorek/ml	Standard/ml	Blank/ml
Vzorek	0,002	-	-
Dest. voda	-	-	0,002
Standard	-	0,002	-
R1	0,350	0,350	0,350

Promíchat a 3-5 minut inkubovat (37°C), změřit absorbanci A_1 vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}). Potom přidat:

R2	0,070	0,070	0,070
----	-------	-------	-------

Promíchat a 3 minuty inkubovat (37°C), změřit absorbanci A_2 vzorku (A_s), standardu (A_{st}) a blanku (A_{bl}).

Výpočet:

Koncentrace IgG v neznámém vzorku je odvozena z kalibrační křivky pomocí vhodného matematického modelu jako je logit/log. Kalibrační křivku sestojte pomocí sady mimimálně 5 kalibrátorů s různými hodnotami koncentrace a pro stanovení nulové hodnoty použijte 0,9% NaCl.

Stabilita kalibrace: 4 týdny

Jednotlivé body kalibrační křivky určíme podle vztahu:

$$C_{IgG} = C_{st} \cdot (\Delta A_s - \Delta A_{bl}) / (\Delta A_{st} - \Delta A_{bl}) \quad [g/l]$$

C_{st} koncentrace IgG v jednotlivých standardech uvedená v atestu [g/l]

A_s absorbance vzorku

A_{st} absorbance standardu

A_{bl} absorbance blanku

Výsledek se vydá v g/l na 2 platná desetinná místa.

Kalibrace:

Ke kalibraci je doporučen kalibrátor TruCal Protein Set (k.č. BV 50020). Přímá návaznost tohoto kalibrátoru je na ERM-DA470k/IFCC, koncentrace byla stanovena s celkovou nejistotou $U_{cal} = 2,01\%$.

Řízení kvality:

Pro vnitřní kontrolu kvality platí doporučení ČSKB SIKK, které je dostupné na webové stránce <http://www.cskb.cz> a pro externí hodnocení kvality je třeba využít některý komerčně dostupný systém, jehož výsledky jsou v ČR akceptovány. Bližší informace na <http://www.sekk.cz>.

Pro vnitřní kontrolu kvality použijte kontrolní séra s deklarovanou hodnotou koncentrace IgG:

^L BV Protein – kontrola Level 1 kat.č. BV 30017 1 ml

^L BV Protein – kontrola Level 2 kat.č. BV 30018 1 ml

Referenční hodnoty:

Dospělí ⁷ :	7 – 16 g/l
Děti ⁷ :	7 – 16 g/l
novorozenci	2,5 – 7,5 g/l
1-3 měsíce	1,8 – 8 g/l
4-6 měsíců	3 – 10 g/l
7-12 měsíců	3,5 – 10 g/l
2 roky	5 – 13 g/l
3-5 roků	6 – 13 g/l
6-9 roků	7 – 14 g/l
10-13 roků	

Každá laboratoř by si měla ověřit, jestli jsou tyto referenční hodnoty vhodné i pro jejich populaci pacientů a stanovit svoje vlastní referenční hodnoty pokud je to nutné.

Měřicí rozsah:

1,75 – 35,0 g/l

Funkční senzitivita/mez stanovitelnosti:

0,08 g/l

Analytická senzitivita/citlivost:

0,04 g/l

Bias:

3,4% (pro 23,10 g/l)

0,2% (pro 11,60 g/l)

Nejistota:

Byla stanovena z nejistoty kalibračního materiálu a nejistoty měření jako rozšířená standardní nejistota ($k=2$)

$$U_{st} = 2 \cdot \sqrt{(U_{cal}^2 + U_{method}^2)} = 2 \cdot \sqrt{(2,01^2 + 1,22^2)} = 4,70\%$$

Analytická selektivita:

Protilátky použité v tomto stanovení jsou specifické proti lidskému IgG. Bilirubin do 1,03 mmol/l, hemoglobin do 10 g/l, RF do 1700 IU/ml a lipémie do 22 mmol/l triacylglycerolů

neruší. Pro více informací o interferujících látkách viz Young DS⁵.

Za dodržení doporučených testovacích podmínek nebyly pozorovány křížové reakce mezi IgA nebo IgM.

Prozone limit:

80 g/l

Přesnost:

Přesnost podle protokolu EP-5 NCCLS.

Přesnost v sérii: ($n=40$)

Vzorek	Průměr g/l	SD g/l	CV %
vzorek 1	11,73	0,141	1,20
vzorek 2	18,54	0,291	1,57
vzorek 3	22,17	0,36	1,62

Přesnost ze dne na den: ($n=40$)

Vzorek	Průměr g/l	SD g/l	CV %
vzorek 1	11,73	0,095	0,81
vzorek 2	18,54	0,214	1,15
vzorek 3	22,17	0,341	1,54

Srovnání metod:

1. Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor ^LIgG (y) a komerčně dostupnou imunoturbidimetrickou soupravou (x) bylo provedeno na 81 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar: $y = 1,10 x - 0,53 \text{ g/l}$; $r = 0,997$.

2. Srovnání stanovení mezi diagnostickou soupravou BioVendor ^LIgG (y) a komerčně dostupnou nefelometrickou soupravou (x) bylo provedeno na 79 vzorcích. Rovnice regresní přímky má tvar: $y = 1,08 x - 0,52 \text{ g/l}$; $r = 0,992$.

Upozornění:

1. Pokud je koncentrace IgG ve vzorku vyšší než 35 g/l, je nutné vzorek naředit 1+1 fyziologickým roztokem (NaCl 9 g/l) a výsledek násobit 2x
2. Pokud je koncentrace IgG ve vzorku nižší než měřicí rozsah soupravy, opakujte stanovení s dvojnásobným objemem vzorku. Pokud je koncentrace stále pod měřicím rozsahem stanovení, zkontrolujte vliv prozone limitu vhodným naředěním vzorku.
3. Reagencie jsou konzervovány azidem sodným (0,095 %), zabraňte styku s pokožkou a slinivcem.
4. Reagent 2 obsahuje biologický materiál zvířecího původu. Zacházejte s ním jako s potenciálně infekčním materiálem v souladu s pokyny správné laboratorní praxe.
5. Ve vzácných případech, vzorky pacientů s gamapathií mohou dávat falešné výsledky. [8]
6. Při práci s touto reagencí dodržujte nutná bezpečnostní opatření v souladu s bezpečnostním listem. Určeno pro diagnostické účely, výsledky by měly být vždy hodnoceny s ohledem na zdravotní historii pacienta, klinické zkoušky a další závěry.
7. Pouze pro použití odborně vyškoleným personálem.
8. Likvidujte v souladu s platnými předpisy.

Literatura:

1. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 667-78.
2. Johnson AM, Rohlf EM, Silverman LM. Proteins. In: Burtis CA, Ashwood ER. editors. Tietz textbook of clinical chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W. B.Saunders Company; 1999. p. 507-12.

3. Bartl R, Hoechtlen-Vollmar W, Thomas L. Monoclonal immunoglobulins. In: Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998. p. 742-58.
4. Guder WG, Narayanan S et al. List of Analytes; Preanalytical Variables. 1st ed. Darmstadt: Git Verlag, 1996: 16-7.
5. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
6. Dati F, Schumann G, Thomas L, Aguzzi F, Baudner S, Bienvenu J et al. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP reference material (CRM 470). Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:517-20.
7. Heil R, Koberstein R, Zawta B. Referenzbereiche für Kinder und Erwachsene. Roche Diagnostics 2004. p. 46 - 47.
8. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: Mechanism, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007; 45(9): 1240–1243.

Vyrobeno:

BioVendor – Laboratorní medicína a.s.
Karásek 1767/1, 621 00 Brno, Česká republika