



Zestaw Optilite® do pomiaru niskiego poziomu IgG

Wyłącznie do wykorzystania w diagnostyce *in vitro*

Kod produktu NK004.LL.OPT

Wyrób wyprodukowany przez:
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.bindingsite.co.uk
Telephone: +44 (0)121 456 9500
Fax: +44 (0)121 456 9749
E-mail: info@bindingsite.co.uk

Optilite to zarejestrowany w niektórych krajach znak handlowy The Binding Site Group Limited (z siedzibą w Birmingham, Wielka Brytania). Inne marki lub nazwy wyrobów mogą być znakami handlowymi należącymi do ich właścicieli.



1 PRZEZNACZENIE

Zestaw Optilite® do pomiaru niskiego poziomu IgG jest przeznaczony do ilościowego pomiaru *in vitro* poziomu IgG w moczu, płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) oraz sparowanych próbkach PMR i surowicy przy pomocy analizatora Optilite. W połączeniu z innymi wynikami klinicznymi i laboratoryjnymi, pomiar tej immunoglobuliny pomaga w ocenie stopnia, w jakim organizm nie jest w stanie oprzeć się chorobom zakaźnym.

2 OPIS I WYJAŚNIENIE

Surowica stanowi główne źródło białek obecnych w PMR, których poziom jest regulowany przez przepuszczalność bariery krew-PMR oraz prędkość przepływu PMR. Wzrost poziomów białek w PMR może wskazywać na wadliwość bariery i/lub miejscową (wewnątrzkanalową) syntezę immunoglobuliny (Ig) w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN)¹. Parametry te mogą być oceniane poprzez pomiar stężeń albuminy, IgG, IgA oraz IgM w surowicy i PMR.

Ponieważ albumina obecna w PMR pochodzi wyłącznie z krwi, współczynnik albuminy PMR/surowica stanowi miarę funkcjonowania bariery. Obliczenie współczynników PMR/surowica oraz porównanie współczynników Ig do wartości PMR/osocze albuminy pozwala na odróżnienie Ig pochodzącego z osocza od Ig zsyntetyzowanego wewnątrzkanalowo.

Ocena funkcjonowania bariery, syntezę wewnątrzkanalowej i innych zmiennych analizów PMR może być przydatna w zdiagnozowaniu różnych schorzeń OUN.

Podwyższone stężenia IgG w moczu wykrywa się u pacjentów z nieselektywnym białkomoczem kłębuszkowym².

3 ZASADA

Określenie stężenia rozpuszczalnego antygenu metodami turbidymetrycznymi wymaga reakcji z określoną surowicą odpornościową w celu stworzenia związków nierozpuszczalnych. System soczewek optycznych przesyła i ogniskuje na fotodiodzie część światła przechodzącego przez powstałą zawiesinę. Ilość przesłanego światła jest w odwrotnej proporcji do stężenia danego białka w badanej próbce. Stężenia są obliczane automatycznie poprzez odniesienie do krzywej kalibracyjnej znajdującej się w instrumencie.

4 ODCZYNNIKI

4.1 Antysurowica: Dostarczony w stabilizowanej formie płynnej. Konserwanty: 0,099% azydki sodu, 0,1% kwasu E-amino-n-kapronowego (EACA), 1mM kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA) oraz 0,01% benzamidyny.

4.2 Wzorzec i materiały kontrolne: Połączona surowica ludzka, dostarczona w stabilizowanej formie płynnej. Zawiera konserwanty w postaci 0,099% azydki sodu, 0,1% EACA oraz 0,01% benzamidyny. Stężenie podane w atęście kontroli jakości uzyskano poprzez porównanie z międzynarodowymi materiałami referencyjnymi DA470k.

4.3 Bufor reakcyjny: Zawiera konserwant w postaci 0,099% azydki sodu.

5 UWAGA

Wszyscy dawcy surowicy ludzkiej zawartej w tym zestawie zostali poddani badaniom surowicy, które dały negatywny wynik dla antygenu powierzchniowego wirusa zapalenia wątroby typu B (HBsAg) oraz przeciwciał przeciw ludzkiemu wirusowi niedoboru odporności (HIV1 i HIV2) i wirusowi zapalenia wątroby typu C. Wykorzystane testy zostały zatwierdzone przez FDA (USA) lub dopuszczone do użycia diagnostyki *in vitro* w UE (Dyrektywa 98/79/WE, Aneks II); pomimo tego nie mogą one gwarantować nieobecności

czynników zakaźnych. Należy ustalić prawidłowe metody obchodzenia się i utylizacji dla wszystkich potencjalnie zakaźnych materiałów, takie jak (między innymi) obowiązek stałego noszenia przez użytkowników odpowiednich środków ochrony i odzieży ochronnej. Do wykonywania tych procedur powinien być dopuszczony wyłącznie personel całkowicie przeszkolony w zakresie takich metod.

OSTRZEŻENIE: Wyrób ten zawiera azydek sodu i ProClin™ i należy obchodzić się z nim z ostrożnością; w czasie używania wyrobu należy zawsze mieć na sobie odpowiednie rękawice oraz inną odzież ochronną. Nie spożywać i zapobiegać przed kontaktem ze skórą (szczególnie ze skaleczeniami i ranami otwartymi) i błonami śluzowymi. Jeśli dojdzie do kontaktu, należy umyć miejsce dużą ilością wody i pilnie uzyskać pomoc medyczną. W wyniku długiego kontaktu z azydkiem sodu mogą powstać wybuchowe azydki metali, szczególnie przy kontakcie z ołowianymi i miedzianymi elementami instalacji kanalizacyjnej. W przypadku utylizacji odczynnika należy przepłukać instalację dużą ilością wody, aby uniknąć osadzania się azydki.

Wyrób ten może używany wyłącznie przez odpowiednio przeszkolony personel do celów opisanych w Przeznaczeniu. Niezbędne jest stałe i ścisłe przestrzeganie tych zaleceń. Zastosowanie parametrów innych, niż te zawarte w zaleceniach może spowodować uzyskanie nieważnych rezultatów.

Odczynniki z zestawów o innych numerach partii **NIE** są wzajemnie zamienne.

6 PRZECHOWYWANIE I STABILNOŚĆ

Nieotwarty zestaw powinien być przechowywany w temperaturze od 2 do 8°C i może być używany do daty ważności widocznej na etykiecie opakowania zestawu. **NIE ZAMRAŻAĆ.** Odczynnik, wzorzec i materiały kontrolne można przechowywać w lodówce do trzech miesięcy po otwarciu, zamknięte, aby uniknąć parowania, w temperaturze od 2 do 8°C. Odczynnik może być przechowywany otwarty w analizatorze Optilite do 30 dni, pod warunkiem, że urządzenie jest podłączone na stałe do sieci.

7 POBIERANIE I PRZYGOTOWANIE PRÓBEK

Próbki powinny być pobierane poprzez wkłucie dożylnie. Krew powinna w naturalny sposób skrzepnąć, a surowica powinna zostać jak najszybciej oddzielona, aby nie dopuścić do hemolizy. Surowicę można przechowywać w temperaturze od 2 do 8°C do ośmiu dni, a dłużej w temperaturze -20°C lub niższej, po rozdzieleniu na mierzone porcje. Należy unikać powtarzania cykli zamrażania i rozmrażania.

Próbki PMR można przechowywać do 7 dni w temperaturze od 2 do 8°C, i do 6 miesięcy w temperaturze -20°C³. Próbki PMR należy odwirować przed testowaniem.

Należy używać świeżo pobranych próbek moczu; przed analizą, powinny zostać one odwirowane w celu usunięcia cząstek stałych.

Nie należy używać próbek skażonych bakteryjnie, hemolizowanych i lipemicznych oraz próbek zawierających cząstki stałe. Do odpowiedzialności danego laboratorium należy wykorzystanie wszystkich dostępnych materiałów referencyjnych i/lub wyników swoich własnych badań w celu ustalenia własnych kryteriów stabilności.

8 METODOLOGIA

8.1 Materiały dostarczone

- 8.1.1 1 Optilite LLlgG Reagent (Odczynnik Optilite LLlgG) dla 60 testów
- 8.1.2 1 Optilite LLlgG Calibrator (wzorzec Optilite LLlgG) 1,9ml
- 8.1.3 1 Optilite LLlgG High Control (materiał Optilite LLlgG wysokiej kontroli) 1,5ml
- 8.1.4 1 Optilite LLlgG Low Control (materiał Optilite LLlgG niskiej kontroli) 1,5ml

8.2 Materiały wymagane lecz niedostarczone

- 8.2.1 Sprzęt do pobierania i przygotowania próbek badanych, np. próbki, wirówka, itp.
- 8.2.2 W pełni sprawny i wyposażony analizator Optilite.
- 8.2.3 Aktualna instrukcja obsługi analizatora. Podręcznik obsługi Optilite, wprowadzić kod INS700.OPT
- 8.2.4 Specjalny płyn myjący Optilite, kod wyrobu IK707
- 8.2.5 Rozcieńczalnik Optilite 1, kod wyrobu IK709
- 8.2.6 Rozcieńczalnik Optilite 2, kod wyrobu IK710

8.3 Przygotowanie odczynnika

Przed załadowaniem należy odczynnik wymieszać łagodnie używając inwersji tak, aby nie wytworzyć lub pozostawić na powierzchni piany lub bąbelków, ponieważ mogą one zakłócić aspirację odczynnika.

8.4 Procedura testu

Użytkownik powinien zapoznać się z obsługą analizatora Optilite przed rozpoczęciem czynności testujących. Analizator należy przygotować do użytku zgodnie z instrukcją zawartą w Podręczniku obsługi Optilite.

- 8.4.1 Parametry testu dla tego testu podano jako kody kreskowe na załączonym atęście QC (np. QCcert004.LL.OPT). Zeskanuj kody kreskowe, by wprowadzić parametry.
- 8.4.2 Próbki surowicy powinny być pobierane przy stopniu rozcieńczenia 1+199 (w celu uzyskania dodatkowych informacji, proszę zapoznać się z Podręcznikiem obsługi Optilite (INS700.OPT), dostarczonym wraz z analizatorem).

8.5 Zakres pomiaru

Przybliżony zakres pomiaru testu przedstawiono w tabeli poniżej.

| Stopień rozpuszczenia dla analizatora Optilite. | Przybliżony zakres (mg/l) |
|---|---------------------------|
| 1+0 | 7,5 - 135 |
| 1+9 | 75 - 1350 |
| 1+199 (tylko surowica) | 1500 - 27000 |

9 KONTROLA JAKOŚCI

Minimum raz dziennie należy przetestować przynajmniej dwa poziomy odpowiedniego materiału kontrolnego. Materiały kontrolne należy testować również po kalibracji, z każdą nową partią odczynnika i po określonych czynnościach konserwacyjnych lub naprawczych opisanych w Podręczniku obsługi Optilite.

Testowanie kontrolne jakości należy przeprowadzać zgodnie z wymogami przepisów oraz ze standardową procedurą danego laboratorium.

Stężenia materiałów kontrolnych powinny być podane na załączonym atście QC (QCcert004.LL.OPT). Uzyskane wyniki można przyjąć jedynie wówczas, gdy rezultaty kontrolne znajdują się w przedziale $\pm 15\%$ podanego stężenia (stężeń). Jeśli w czasie pomiaru przy pomocy zachowanej krzywej uzyskany zostanie wynik kontrolny poza zakresem, pomiar musi zostać ponownie skalibrowany. Jeśli po rekalkibracji wyniki kontrolne mierzone przy pomocy nowej krzywej nadal znajdują się poza zakresem, należy sprawdzić instrument i parametry pomiarowe przed powtórzeniem pomiaru. Jeśli problemy nie znikną, proszę się skontaktować z miejscowym serwisem technicznym.

10 OGRANICZENIA

- 10.1 Pomiary turbidymetryczne nie nadają się do pomiaru wysoce lipemicznych lub hemolizowanych próbek ani próbek zawierających wysokie poziomy krążących kompleksów immunologicznych (KKI) ponieważ tego typu próbki mogą wytworzyć nieprzewidywalny stopień przypadkowych zanieczyszczeń. Nieoczekiwane wyniki należy potwierdzić przy pomocy alternatywnej metody testowania.
- 10.2 Pomiar ten nie został walidowany z użyciem próbek pediatrycznych.
- 10.3 Nie należy dokonywać diagnozy i prowadzić leczenia jedynie na podstawie pomiarów IgG. Należy wziąć pod uwagę ogólny wywiad kliniczny pacjenta oraz inne wyniki laboratoryjne.
- 10.4 Przy znacznie podwyższonych poziomach IgG, np. przy surowicach od pacjentów ze szpiczakiem mnogim, może dojść do przeniesienia wyników. Badanie próbek PRM na IgG powinno być przeprowadzone oddzielnie od badań próbek o takich zwykłych poziomach.
- 10.5 Nie dokonano oceny wpływu bakterii na wyniki. Probki PMR powinno być jak najświeższe, aby ograniczyć wzrost bakterii, a przed badaniem wszystkie próbki powinny być odwirowane (patrz dział 7).
- 10.6 Nie można całkowicie wykluczyć potencjalnego pojawienia się nadmiaru antygenu; w rzadkich wypadkach próbki z wysokim stężeniem IgG mogą dawać fałszywie niskie odczyty spowodowane przez nadmiar antygenu. W celu potwierdzenia wyniku, w przypadkach gdy nadmiar antygenu jest możliwy lub podejrzewany, zaleca się ponowne testowanie tej samej próbki przy wyższym rozcieńczeniu.

11 OCZEKIWANE WARTOŚCI

odane przedziały uzyskano na podstawie ograniczonej liczby próbek i powinny być one przeznaczone jedynie do celów orientacyjnych. Oczekiwane wartości mogą się różnić w zależności od wieku, płci, typu próbki, diety i umiejscowienia geograficznego. Każde laboratorium powinno zweryfikować przenaszalność wartości oczekiwanych na swoją własną populację i, jeśli to konieczne, określić własny przedział odniesienia.

Przedział dla surowicy osób dorosłych

| | Numer (n) | Średnia (mg/l) | Mediana (mg/l) | Przedział 95 percentyla (mg/l) |
|-----|-----------|----------------|----------------|--------------------------------|
| IgG | 120 | 10926 | 10807 | 6103 - 16160 |

Zostało to zweryfikowane przy wykorzystaniu surowicy od 50 normalnych dawców.

Zakres dla PMR dla dorosłych

Zakres referencyjny dla IgG w PRM: <34mg/l (po przeliczeniu na DA470k).⁴

Wartości referencyjne w znaczeniu prawdziwym istnieją jedynie dla współczynnika PMR/surowica.^{1,4}

Zakres dla moczu osób dorosłych

Zakres referencyjny dla IgG w moczu: <9,6mg/l². Zostało to zweryfikowane przy wykorzystaniu moczu od 20 normalnych dawców.

12 CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

12.1 Precyzja

Surowica: Badanie precyzji testowania surowicy oparte zostało na: *Ocena precyzji wyników klinicznych metod pomiarów wielkościowych CLSI EP5-A2 (CLSI EP5-A2 Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods)*. Badanie to przeprowadzono w ciągu 21 dni roboczych, z 2 pobraniami dziennie. Jeden użytkownik dokonał pomiaru 6 różnych próbek, używając 2 partii odczynnika, i korzystając z 4 analizatorów.

| | Podsumowanie precyzji | | | | | | | |
|----------|-----------------------|-------------------|-----|---------------------|-----|-----------------|-----|------------|
| | Średnia (mg/l) | W czasie pobrania | | Pomiędzy pobraniami | | Pomiędzy dniami | | Ogółem |
| | | SD | %CV | SD | %CV | SD | %CV | |
| Poziom 1 | 2496,1 | 164,5 | 6,6 | 101,2 | 4,1 | 175,8 | 7,0 | 261,1 10,5 |
| Poziom 2 | 4604,4 | 218,9 | 4,8 | 188,8 | 4,1 | 198,9 | 4,3 | 350,9 7,6 |
| Poziom 3 | 7316,0 | 156,9 | 2,1 | 281,0 | 3,8 | 231,2 | 3,2 | 396,2 5,4 |
| Poziom 4 | 11672,1 | 219,2 | 1,9 | 270,7 | 2,3 | 362,2 | 3,1 | 502,5 4,3 |
| Poziom 5 | 19908,7 | 283,3 | 1,4 | 481,3 | 2,4 | 667,4 | 3,4 | 870,3 4,4 |
| Poziom 6 | 23595,4 | 552,8 | 2,3 | 0,0 | 0,0 | 579,2 | 2,5 | 800,7 3,4 |

PMR: Badanie precyzji testowania PMR oparte zostało na: *Ocena precyzji wyników klinicznych metod pomiarów wielkościowych CLSI EP5-A2 (CLSI EP5-A2 Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods)*. Badanie to przeprowadzono w ciągu 5 dni roboczych, z 2 pobraniami dziennie. Jeden użytkownik dokonał pomiaru 4 różnych próbek, używając 1 partii odczynnika, i korzystając z 3 analizatorów.

| | Podsumowanie precyzji | | | | | | | |
|-----------|-----------------------|-------------------|-----|---------------------|-----|-----------------|-----|----------|
| | Średnia (mg/l) | W czasie pobrania | | Pomiędzy pobraniami | | Pomiędzy dniami | | Ogółem |
| | | SD | %CV | SD | %CV | SD | %CV | |
| Poziom 1 | 13,5 | 0,3 | 2,5 | 0,2 | 1,4 | 1,2 | 9,2 | 1,3 9,6 |
| Poziom 2 | 34,5 | 1,3 | 3,6 | 0,4 | 1,2 | 2,0 | 5,7 | 2,4 6,9 |
| Poziom 3 | 111,4 | 0,8 | 0,7 | 2,4 | 2,2 | 3,9 | 3,5 | 4,7 4,2 |
| Poziom 4* | 988,9 | 9,6 | 1,0 | 29,1 | 2,9 | 22,9 | 2,3 | 38,2 3,9 |

* wykonany przy rozcieńczeniu próbki 1+9

12.2 Porównanie

Surowica: Badanie porównawcze polegało na analizie 70 próbek surowicy (w tym 66 próbek o poziomie analitu w zakresie referencyjnym) z wykorzystaniem zestawu do pomiaru niskiego poziomu IgG Optilite oraz alternatywnego, dostępnego komercyjnie testu. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 1,01x + 255,01 \text{ (mg/l)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{porównawczy analizator})$$

$$\text{Współczynnik korelacji } r = 0,978 \quad (\text{obliczony przy pomocy regresji liniowej})$$

PMR: Badanie porównawcze polegało na analizie 66 próbek PRM (w tym 30 próbek o poziomie analitu w zakresie referencyjnym) z wykorzystaniem zestawu do pomiaru niskiego poziomu IgG Optilite oraz alternatywnego, dostępnego komercyjnie testu. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 0,96x + 4,48 \text{ (mg/l)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{porównawczy analizator})$$

$$\text{współczynnik korelacji } r = 0,998 \quad (\text{obliczony przy pomocy regresji liniowej})$$

Mocz: Badanie porównawcze polegało na analizie 61 próbek moczu (w tym 29 próbek o poziomie analitu w zakresie referencyjnym) z wykorzystaniem zestawu do pomiaru niskiego poziomu IgG Optilite oraz alternatywnego, dostępnego komercyjnie testu. Analiza dała następujące wyniki:

| Zestaw Optilite do pomiaru niskiego poziomu IgG | Test alternatywny | |
|---|-------------------|---|
| | + | - |
| | 29 | 3 |
| Względna czułość | 96,67% | |
| Względna swoistość | 90,32% | |
| Względna zgodność | 93,44% | |

12.3 Granica oznaczalności

Granica oznaczalności tego testu określona jest jako dolna wartość zakresu pomiarowego, 7,5 mg/l. Badanie walidujące granicę oznaczalności oparte było o Protokoły określania granic wykrywalności i granic oznaczalności CLSI EP17-A (CLSI EP17-A Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation).

12.4 Liniowość

Badanie liniowości zostało przeprowadzone w oparciu o Oceny liniowości procedur pomiarów ilościowych CLSI (Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures): Podejście statystyczne; zatwierdzone wytyczne (EP6-A). Liniowość tego badania została potwierdzona przy użyciu próbki PMR seryjnie rozcieńczanej w przedziale od 7,5 - 135 mg/l oraz próbki surowicy seryjnie rozcieńczanej w przedziale od 1500 - 27 000 mg/l, przy odchyleniu od liniowości <10%.

12.5 Zakłócenia

Wykonano badanie zgodnie w CLSI EP7-A2 (CLSI Document EP7-A2). Testowanie zakłóceń w chemii klinicznej, zatwierdzone wytyczne (Dokument CLSI EP7-A2). Przetestowano próbki surowicy i PMR o wynikach na granicy podejmowania decyzji medycznych. Nie zaobserwowano znaczących zakłóceń badania w surowicy testowanej z trójglicerydem (500 mg/dl), Inlralipidem (1000 mg/dl), bilirubiną (200 mg/dl) ani z hemoglobina (5 g/l). Nie zaobserwowano znaczących zakłóceń badania w PMR testowanym z hemoglobina (625 mg/l), bilirubiną (50 mg/dl), acetaminofenem (200 mg/l) ani z kwasem acetylosalicylowym (600 mg/l). Nie zaobserwowano znaczących zakłóceń badania w moczu testowanym z kwasem askorbinowym (1000 mg/l) ani z urobilinogenem (45 mg/l).

12.6 Nadmiar antygenu

Nie zaobserwowano nadmiaru antygenu do poziomu 188-krotnej wielokrotności górnej wartości krzywej kalibracyjnej przy użyciu standardowego rozcieńczenia próbki 1+0. Najwyższa koncentracja w testowanej próbce surowicy wyniosła 25439 mg/l. W rzadkich wypadkach w próbkach może pojawić się nadmiar antygenu poniżej tego poziomu - patrz Dział 10.6.

13 BIBLIOGRAFIA

- Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. J Neurol Sci 2001;184:101-22
- Hofmann W, Guder WG. A diagnostic programme for quantitative analysis of proteinuria. J Clin Chem Clin Biochem 1989; 27: 589-600.
- Wu AHB, ed. Tietz Clinical guide to laboratory tests, 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2006: 600.
- Felgenhauer K. Laboratory diagnosis of neurological diseases. In Thomas L (Ed.) Clinical laboratory diagnosis, TH-books, Frankfurt/Main 1998; 1308-26.