



Optilite®

OPTIMISED PROTEIN SYSTEM

Zestaw Optilite® do pomiaru niskiego poziomu albuminy

Wyłącznie do wykorzystania w diagnostyce *in vitro*

Kod produktu: NK032.L.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 PRZEZACZENIE

Zestaw Optilite do pomiaru niskiego poziomu albuminy jest przeznaczony do ilościowego pomiaru *in vitro* poziomu albuminy w PMR, moczu i surowicy, korzystając z analizatora Optilite firmy Binding Site, aby pomóc w zdiagnozowaniu chorób nerek i jelit. Badanie to powinno być używane razem z innymi wynikami laboratoryjnymi i klinicznymi.

2 OPIS I WYJAŚNIENIE

Albumina jest białkiem o pojedynczym łańcuchu, o masie 66 kD, występującym w surowicy, a także w niewielkich stężeniach w innych płynach ustrojowych. Do głównych zadań należy utrzymanie napięcia osmotycznego oraz łączenie i transport wielu substancji, w tym bilirubiny, kwasów tłuszczowych, metali, hormonów i wielu leków. Spadek stężenia w surowicy wielkości 20 do 30% może być wynikiem negatywnych czynników środowiskowych, żywieniowych, toksyn i traumy. Obniżone stężenia albuminy łączy się z narciową, marskością wątroby oraz stanami zapalnymi. Obniżony poziom albuminy w surowicy występuje również u hospitalizowanych pacjentów pozostających w pozycji leżącej, prawdopodobnie w wyniku restrykcji wody (Ref. 1-3). Wczesne wykrycie i leczenie nefropatii ważne jest dla zapobieżenia niewydolności nerek u pacjentów z cukrzycą zależną od insuliny. Podwyższone stężenie albuminy w moczu wskazuje w znaczący sposób na uszkodzenie kłębuszków w tych pacjentów. Podwyższone wydzielanie albuminy jest również wskaźnikiem przyszłych problemów z krążeniem u pacjentów z cukrzycą niezależną od insuliny a także pojawia się przy innych przewlekłych schorzeniach, takich jak nadciśnienie, choroby złośliwe oraz przewlekła obturacyjna choroba układu oddechowego (Ref. 4, 5). 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 (wewnątrzkanałową) syntezę immunoglobuliny w ośrodkowym układzie nerwowym (OUN). (Ref. 6)

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 instrukcji.

4 ODCZYNNIKI

- 4.1 Antysurowica:** Dostarczony w stabilizowanej formie płynnej. Konserwanty: 0,099% azydki sodu, 0,1% kwasu ε-aminokapronowego (EACA), 1mM kwasu etylenodiaminotetraoctowego (EDTA), oraz 0,01% benzamidyny.
- 4.2 Wzorzec i materiały kontrolne:** Połączona surowica ludzka, dostarczona w stabilizowanej formie płynnej. Zawiera następujące konserwanty: 0,099% azydki sodu, 0,1% EACA oraz 0,01% benzamidyny. Stężenie podane w atestach 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 używania w diagnostyce *in vitro* w UE (Dyrektywa 98/79/WE, Aneks II); pomimo tego nie mogą one gwarantować braku

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

OSTRZEŻENIE: Wyrób ten zawiera azydki sodu 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 ściśle 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

Nieotarty 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

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

PMR: Próbkę należy testować jak najszybciej po pobraniu. Próbkę PMR można przechowywać do 7 dni w temperaturze od 2 do 8°C, i do 6 miesięcy w temperaturze -20°C (Ref. 7). Próbkę należy odwirować przed testowaniem.

Surowica: Próbkę 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 w temperaturze od 2 do 8°C do siedmiu dni przed testowaniem. Do długotrwałego przechowywania próbkę należy zamrozić w ciągu 24 godzin od pobrania i przechowywać do 3 miesięcy w temperaturze -20°C lub niższej. Należy unikać powtarzania cykli zamrażania i rozmrażania. 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 (Ref. 8).

8 METODOLOGIA

8.1 Materiały dostarczone

- 8.1.1 1 Optilite LLA1b Reagent (odczynnik LLA1b Optilite) do 100 testów
8.1.2 1 Optilite LLA1b Calibrator (wzorzec LLA1b Optilite) 2,6 ml
8.1.3 1 Optilite LLA1b High Control (materiał wysokiej kontroli LLA1b Optilite) 1,9 ml
8.1.4 1 Optilite LLA1b Low Control (materiał niskiej kontroli LLA1b Optilite) 1,9 ml
8.1.5 1 Optilite LLA1b Antigen Excess Control (materiał kontroli nadmiaru antygenu LLA1b Optilite) 1,4 ml

8.2 Materiały wymagane lecz niedostarczone

- 8.2.1 Sprzęt do pobierania i przygotowania próbek badanych, np. probówki, 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 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 atestie QC (np. QCcert032.L.OPT). „Zeskanuj kody kreskowe, by wprowadzić parametry”
8.4.2 Należy zapewnić, że materiał kontroli nadmiaru antygenu LLA1b Optilite znajduje się w urządzeniu przez cały czas trwania tego badania.
8.4.3 Próbkę 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

PMR i Mocz: Przybliżony zakres pomiaru testu przedstawiono w tabeli poniżej.

Stopień rozpuszczenia dla analizatora Optilite.	Przybliżony zakres (mg/l)
1+0	11 - 333
1+9	110 - 3325
1+49	550 - 16625

Surowica: Przybliżony zakres pomiaru testu przedstawiono w tabeli poniżej.

Stopień rozpuszczenia dla analizatora Optilite.	Przybliżony zakres (mg/l)
1+199	2200 - 66500

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 dostarczonych materiałów kontrolnych zamieszczone są w załączonym atście QC (QCen032.L.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 rekalkulacji 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, ikteryicznych lub hemolizowanych próbek ani próbek zawierających wysokie poziomy krążących kompleksów immunologicznych (KKI) ponieważ w tego typu próbkach może powstać nieprzewidywalny stopień przypadkowych zanieczyszczeń. Nieoczekiwane wyniki należy potwierdzić przy pomocy alternatywnej metody testowania.
- 10.2 Nie należy dokonywać diagnozy i prowadzić leczenia jedynie na podstawie pomiarów albuminy. Należy wziąć pod uwagę ogólny wywiad kliniczny pacjenta oraz inne wyniki laboratoryjne.
- 10.3 Badanie to nie jest przeznaczone do użytku pediatrycznego.
- 10.4 Nie dokonano oceny wpływu bakterii na wyniki. Próbkę PMR powinno być jak najświeższe, aby ograniczyć wzrost bakterii a przed badaniem wszystkie próbki powinny być odwirowane (patrz dział 7).

11 OCZEKIWANE WARTOŚCI

Podane przedziały uzyskano na podstawie ograniczonej liczby próbek i powinny być one traktowane 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.

Zakresy referencyjne surowicy i moczu przeniesiono z alternatywnego, komercyjnie dostępnego testu zgodnie z dokumentem EP C28-A3 CLSI „Definiowanie, ustalanie i weryfikacja zakresów referencyjnych w laboratorium klinicznym” (“Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory”) i walidowano poprzez pomiar stężenia albuminy w próbkach pobranych od 50 zdrowych osób dorosłych, korzystając z zestawu Optilite do pomiaru niskiego poziomu albuminy. Zawsze gdy to możliwe, zdecydowanie zalecane jest ustalanie lokalnych zakresów.

Albumina w moczu: <30.0 mg/l.

Albumina w PMR: <350 mg/l. (Ref. 9).

Albumina w surowicy: 35000 – 52000 mg/l.

12 CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW

12.1 Precyzja

Badanie precyzji oparte było 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.

Mocz: Jeden użytkownik dokonał pomiaru 5 różnych próbek, używając 3 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	22,98	0,15	0,5	0,57	1,9	0,67	2,2	0,89
Poziom 2	39,04	0,22	0,6	0,68	1,7	1,04	2,7	1,26
Poziom 3	153,40	1,54	1,0	1,29	0,8	2,50	1,6	3,21
Poziom 4*	275,05	2,12	0,8	3,70	1,3	7,78	2,8	8,87
Poziom 5**	1490,18	13,33	0,9	22,30	1,5	29,35	2,0	39,20

* wykonany przy rozcieńczeniu próbki 1+9

PMR: Jeden użytkownik dokonał pomiaru 5 różnych próbek, używając 3 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	145,49	0,98	0,7	1,44	1,0	8,59	5,9	8,77
Poziom 2	281,51	3,55	1,3	2,19	0,8	14,79	5,3	15,37
Poziom 3*	439,89	3,72	0,8	6,85	1,6	14,18	3,2	16,18
Poziom 4*	593,11	5,81	1,0	7,08	1,2	19,13	3,2	21,21
Poziom 5**	975,24	13,81	1,4	25,08	2,6	74,82	7,7	80,11

* wykonany przy rozcieńczeniu próbki 1+9

** wykonany przy rozcieńczeniu próbki 1+49

Surowica: Jeden użytkownik dokonał pomiaru 5 różnych próbek, używając 3 partii odczynnika, i korzystając z 3 analizatorów przy stopniu rozpuszczenia próbki 1+199.

Podsumowanie precyzji								
	Średnia (mg/l)	W czasie pobrania		Pomiędzy pobraniami		Pomiędzy dniami		Ogółem
		SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	
Poziom 1*	4012,83	73,33	1,8	96,21	2,4	132,07	3,3	179,10
Poziom 2*	14007,33	179,16	1,3	289,26	2,1	526,46	3,8	626,84
Poziom 3	28501,06	340,92	1,2	261,40	0,9	713,95	2,5	833,23
Poziom 4	36976,78	478,12	1,3	314,41	0,9	791,26	2,1	976,49
Poziom 5	54447,24	866,65	1,6	843,34	1,5	1357,89	2,5	1818,29

* wykonano używając 1 partii odczynnika, na 4 analizatorach.

12.2 Porównanie

Mocz: Badanie porównawcze polegało na analizie 174 próbek (w tym 98 próbek o poziomie analitu w zakresie referencyjnym) z wykorzystaniem zestawu Optilite do pomiaru niskiego poziomu albuminy oraz alternatywnego, dostępnego komercyjnie testu. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 1,05x - 0,00 \text{ mg/l} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{porównawczy analizator})$$

$$\text{współczynnik korelacji } r = 0,987 \quad (\text{obliczony przy pomocy regresji liniowej})$$

PMR: Badanie porównawcze polegało na analizie 125 próbek (w tym 100 próbek o poziomie analitu w zakresie referencyjnym) z wykorzystaniem zestawu Optilite do pomiaru niskiego poziomu albuminy oraz alternatywnego, dostępnego komercyjnie testu. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 1,02x + 9,80 \text{ mg/l} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{porównawczy analizator})$$

$$\text{współczynnik korelacji } r = 0,941 \quad (\text{obliczony przy pomocy regresji liniowej})$$

Surowica: Badanie porównawcze polegało na analizie 142 próbek (w tym 84 próbek o poziomie analitu w zakresie referencyjnym) z wykorzystaniem zestawu Optilite do pomiaru niskiego poziomu albuminy oraz alternatywnego, dostępnego komercyjnie testu. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 1,01x + 932,82 \text{ mg/l} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{porównawczy analizator})$$

$$\text{współczynnik korelacji } r = 0,996 \quad (\text{obliczony przy pomocy regresji liniowej})$$

12.3 Granica oznaczalności

Mocz i PMR: Granica oznaczalności tego testu określona jest jako dolna wartość zakresu pomiarowego, 11 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)*.

Surowica: Granica oznaczalności tego testu określona jest jako dolna wartość zakresu pomiarowego, 2200 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 Ocenę 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 seryjnie rozcieńczanej, przy odchyleniu od liniowości <10%.

Typ próbki	Przedział (mg/l)
Mocz:	11 - 333
PMR:	11 - 333
Surowica:	2200 - 66500

12.5 Zakłócenia

Badanie wykonano zgodnie w CLSI EP7-A2: Testowanie zakłóceń w chemii klinicznej, zatwierdzone wytyczne (Dokument CLSI EP7-A2). Przetestowano normalną próbkę, próbki bliskie punktowi podejmowania decyzji medycznych oraz próbki anormalne.

Mocz: Nie zaobserwowano znaczących zakłóceń badania przy testowaniu z urobilinogenem (45 mg/l), hemoglobina (250 mg/l) lub kwasem askorbinowym (200 mg/l). Bilirubina wykazuje oznaki zakłóceń; nie należy w związku z tym używać próbek ikteryicznych (patrz Dział 10.1)

PMR: Nie zaobserwowano znaczących zakłóceń badania przy testowaniu z bilirubiną (200 mg/l) ani z hemoglobina (5 g/l).

Surowica: Nie zaobserwowano znaczących zakłóceń badania w surowicy testowanej z triglicerydami (1000 mg/dl), Intralipidem (2000 mg/dl), bilirubiną (200 mg/l) ani z hemoglobina (5 g/l).

12.6 Nadmiar antygenu

Nie zaobserwowano nadmiaru antygenu do poziomu 60-krotnej wielokrotności górnej wartości krzywej kalibracyjnej przy użyciu standardowego rozcieńczenia próbki 1+0. Jest to odpowiednik 20000 mg/l.

13 BIBLIOGRAFIA

- Rothschild, MA et al. (1988). Serum albumin (review). Hepatology 8, 385-401.
- Zilva, JF & Pannall, PR (1984). Clinical Chemistry in diagnosis and treatment. Publ. Lloyd-Luke (Medical Books) Ltd, London, 341- 343.
- Varley's Practical Clinical Biochemistry, 6th edn. (1988). Ed. AH Gowerlock. Publ. Heinemann Medical Books, Oxford England, 419-421.
- Gosling P (1995). Microalbuminuria: a marker of systemic disease. Br. J. Hospital Medicine, 54, 285-290.
- Milford Ward A, Riches PG, Fifield R and Smith AM (Eds) (1999) PRU Handbook of Clinical Immunochemistry. Publ. PRU Publications, Sheffield, UK.
- Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. J Neurol Sci 2001; 184:101-22.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
- CLSI GP44-A4, Vol. 30 No. 10, 5.5.1.1.1, May 2010, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline".
- Reiber H. Reference Ranges of Analytes in CSF and Serum. In: Laboratory Diagnosis in Neurology. English 1st Edition Eds. Wildemann B., Oschmann P., Reiber H. THIEME; 2010; 21: 256.