



## Zestaw Optilite® IgG4

**Wyłącznie do wykorzystania w diagnostyce *in vitro***

**Kod produktu: LK009.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).



### 1. PRZEZNACZENIE

Zestaw Optilite dla IgG4 jest przeznaczony do ilościowego pomiaru *in vitro* poziomu IgG4 w surowicy, osoczu z heparyną litową lub z EDTA, korzystając z analizatora Optilite firmy Binding Site. Pomiar tej immunoglobuliny pomaga w zdiagnozowaniu nieprawidłowej przemiany białka oraz stopnia braku zdolności organizmu do oparcia się chorobom zakaźnym. Badanie to powinno być używane razem z innymi wynikami laboratoryjnymi i klinicznymi.

### 2. OPIS I WYJAŚNIENIE

U normalnych osób dorosłych, IgG stanowi około 75% całkowitej immunoglobuliny obecnej w surowicy. W ramach klasy IgG, typowa kolejność stężenia 4 podklas to: IgG1>IgG2>IgG3>IgG4, natomiast faktyczne stężenia mogą różnić się znacząco pomiędzy poszczególnymi osobami. Cztery podklasy IgG różnią się znacznie swoimi właściwościami, a w tym zdolnością wiązania dopełniacza, wiązania z makrofagami i przenikania przez łożysko. Nieprawidłowe poziomy jednej lub więcej klas mogą być kojarzone z pewnymi schorzeniami, a w tym anafilią, chorobami autoimmunologicznymi i układu pokarmowego oraz hipogammaglobulinemią (Ref. 1). Dokonano przeglądu tego zagadnienia (Ref 2, 3).

### 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 Odczynnik lateksowy:** Składa się z warstwy poliklonalnego monoswoistego przeciwciała pochodzącego od owcy i nałożonego na lateks polistyrenowy. Konserwanty: 0,05% ProClin™, 0,033% azydu sodu, 0,1% kwasu E-amino-n-kapronowego (EACA) oraz 0,01% benzamidyny.

**4.2 Wzorzec i materiały kontrolne:** Połączona surowica ludzka, dostarczona w stabilizowanej formie płynnej. Zawiera następujące konserwanty: 0,099% azydu sodu, 0,1% EACA oraz 0,01% benzamidyny. Stężenie podane w atście kontroli jakości uzyskano poprzez porównanie z międzynarodowymi materiałami referencyjnymi DA470k (Referencje 4 i 5).

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

ProClin™ jest znakiem towarowym Rohm and Haas Corp., z siedzibą w Filadelfii, w stanie Pensylwania.

### 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 i utylizacji 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 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 skażeniami i ranami otwartymi) i błonami śluzowymi. Jeśli dojdzie do kontaktu, należy przemyć 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 azydu.

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 PROBEK

Próbki powinny być pobierane poprzez wkucie dożylnie i w przypadku osocza jak najszybciej rozdzielone. 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 i zamrożeniu w stanie nierozcieńczonym. Należy unikać powtarzania cyklu zamrażania i odmrażania. Przed wykonaniem badania należy odwirować próbki zawierające 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 6).

### 8. METODOLOGIA

#### 8.1 Materiały dostarczone

- 8.1.1 1 Optilite IgG4 Reagent (odczynnik Optilite IgG4) do 100 testów
- 8.1.2 1 Optilite IgG4 Calibrator (wzorzec Optilite IgG4) 2,1 ml
- 8.1.3 1 Optilite IgG4 High Control (materiał Optilite IgG4 wysokiej kontroli) 1,4 ml
- 8.1.4 1 Optilite IgG4 Low Control (materiał Optilite IgG4 niskiej kontroli) 1,4 ml
- 8.1.5 1 Optilite IgG4 Elevated High Control (materiał Optilite IgG4 podwyższonej wysokiej kontroli) 1,4 ml
- 8.1.6 1 Optilite IgG4 Antigen excess Control (materiał Optilite IgG4 kontroli nadmiaru antygenu) 1,6 ml

#### 8.2 Materiały wymagane lecz niedostarczone

- 8.2.1 Sprzęt do pobierania i przygotowania próbek badanych, np. próbówki, 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 1, kod wyrobu IK709

#### 8.3 Przygotowanie odczynnika

Przed załadowaniem należy odczynnik wymieszać łagodnie używając inwersji tak, aby nie wytworzył lub pozostawił 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 atście QC (QCcert009.OPT). Parametry należy wprowadzić poprzez zeskanowanie kodów kreskowych 1 i 2.

#### 8.5 Zakres pomiaru

Przybliżony zakres pomiaru testu przedstawiono w tabeli poniżej.

Stopień rozpuszczenia dla analizatora Optilite.	Przybliżony zakres (mg/l)
1+1	4.3 - 216
1+24	54 - 2700
1+120	261 - 13068
1+599	1296 - 64800

### 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 (QCcert009.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.

Wartość zsumowanej IgG jest uzyskana poprzez dodanie razem wartości dla czterech podklas i powinna się ona znajdować się w przedziale  $\pm 20\%$  całkowitego IgG (patrz 10.4).



## 10 OGRANICZENIA

- 10.1 Pomiary turbidymetryczne nie nadają się do pomiaru próbek zawierających czynnik reumatoidalny lub paraproteiny, wysoce lipemicznych lub hemolizowanych próbek ani próbek zawierających wysokie poziomy kłaczkowe kompleksy immunologiczne (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 IgG4. Należy wziąć pod uwagę ogólny wywiad kliniczny pacjenta oraz inne wyniki laboratoryjne.
- 10.3 Wyniki uzyskane z pomiarów podklas IgG nie powinny być wykorzystywane do pomiaru atopii u pacjentów z alergią.
- 10.4 Jeśli zsumowana wartość IgG (patrz Dział 9) znajduje się poza dopuszczalnym zakresem, próbki należy powtórzyć z większym stopniem rozcieńczenia.
- 10.5 Informacje z systemu ostrzegania o nadmiarze antygenu (komunikaty „antigen limit low” - limit antygenu na poziomie niskim) przedstawione są wraz z wynikami IgG4. Wszystkie wyniki IgG4 należy interpretować wspólnie z wynikami zsumowania podklas IgG.
- 10.6 Nie można całkowicie wykluczyć potencjalnego pojawienia się nadmiaru antygenu; w rzadkich wypadkach próbki z obecnym monoklonalnym IgG4 mogą dawać fałszywie niskie odczyty spowodowane przez nadmiar antygenu. W celu potwierdzenia wyniku, w przypadkach gdy nadmiar antygenu jest możliwy lub podejrzany, zaleca się ponowne testowanie tej samej próbki przy wyższym rozcieńczeniu.

## 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 położenia 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)
IgG4	30	280	215,3	39,2 - 864

### Zakres surowicy pediatrycznej

Zakresy te uzyskano poprzez pomiary IgG4 zawartej w próbkach surowicy pediatrycznej z jednego ze szpitali w Birmingham i używając do tego wyrobów Binding Site Radial Immunodiffusion. Wszystkie stężenia podane są w mg/l.

Wiek	Numer (n)	Średnia (mg/l)	Przedział 95 percentyla (mg/l)
0 - 2 lat	39	129	5 - 784
2 - 4 lat	36	171	10 - 537
4 - 6 lat	49	329	18 - 1125
6 - 8 lat	43	331	4 - 992
8 - 10 lat	32	349	19 - 932
10 - 12 lat	46	323	16 - 1150
12 - 14 lat	54	409	37 - 1360
14 - 18 lat	48	521	110 - 1570

## 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. Jeden użytkownik dokonał pomiaru 9 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	SD	% CV
Poziom 1*	23,6	0,9	3,8	0,0	0,0	0,9	3,7	1,2	5,2
Poziom 2*	31,2	0,5	1,5	0,8	2,6	0,9	3,0	1,3	4,2
Poziom 3*	48,8	0,5	1,0	1,4	2,8	2,1	4,2	2,5	5,2
Poziom 4	124,0	1,9	1,6	2,2	1,8	5,7	4,6	6,5	5,2
Poziom 5	611,6	9,1	1,5	12,0	2,0	21,2	3,5	26,0	4,2
Poziom 6	1148,3	16,4	1,4	25,8	2,2	42,0	3,7	51,9	4,5
Poziom 7**	4371,3	88,3	2,0	86,7	2,0	206,2	4,7	240,5	5,5
Poziom 8	1473,6	20,8	1,4	27,8	1,9	51,7	3,5	62,2	4,2
Poziom 9	2152,5	23,0	1,1	77,7	3,6	40,1	1,9	90,4	4,2

\* wykonany przy rozcieńczeniu próbki 1+1

\*\* wykonany przy rozcieńczeniu próbki 1+599

### 12.2 Porównanie

Badanie porównawcze polegało na analizie 312 próbek surowicy (w tym 286 próbek surowicy klinicznych i 26 normalnych surowic) z wykorzystaniem zestawu IgG4 Optilite oraz alternatywnego, dostępnego komercyjnie testu. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 0,92x + 10 \text{ (mg/l)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{porównawczy analizator})$$

$$\text{współczynnik korelacji } r = 0,992 \quad (\text{obliczony przy pomocy regresji liniowej})$$

Badanie porównawcze polegało na analizie 56 sparowanych próbek osocza, zawierających surowicę i heparynę litową, z wykorzystaniem testu IgG4 Optilite. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 0,99x + 7,08 \text{ (mg/l)} \quad (y = \text{osocze Li Hep}; x = \text{surowica})$$

$$\text{współczynnik korelacji } r = 0,997 \quad (\text{obliczony przy pomocy regresji liniowej})$$

Badanie porównawcze polegało na analizie 56 sparowanych próbek osocza, zawierających surowicę i EDTA, z wykorzystaniem zestawu IgG4 Optilite. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 0,97x + 3,38 \text{ (mg/l)} \quad (y = \text{osocze z EDTA}; x = \text{surowica})$$

$$\text{współczynnik korelacji } r = 0,995 \quad (\text{obliczony przy pomocy regresji liniowej})$$

### 12.3 Granica oznaczalności

Granica oznaczalności tego testu określona jest jako dolna wartość zakresu pomiarowego, 4,3 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 EP6-A (CLSI EP6-A Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures)*. Przedstawiona została liniowość w zakresie analitu od 19,96 do 3065,48 mg/l, korzystając z rozcieńczenia próbki 1 + 24.

Równanie regresji:  $y = 0,98x - 12,85$  ( $y$  = stężenie zmierzone,  $x$  = stężenie teoretyczne),  $r = 0,999$

### 12.5 Zakłócenia

Badanie wykonano zgodnie w CLSI EP7-A2: *Testowanie zakłóceń w chemii klinicznej, zatwierdzone wytyczne* (Dokument CLSI EP7-A2). Przetestowano normalną próbkę surowicy, próbki surowicy bliską punktowemu podejmowaniu decyzji medycznych oraz próbki surowicy anormalnej. Nie zaobserwowano znaczących zakłóceń badania przy testowaniu z chylusem (1500 FTU), bilirubiną (200 mg/l) ani z hemoglobina (5 g/l).

Nie są znane zakłócenia spowodowane przez powszechnie używane leki. Dalsze informacje znajdują się w literaturze (Ref 7).

### 12.6 Nadmiar antygenu

Nie zaobserwowano nadmiaru antygenu do poziomu 26,4-krotnej wielokrotności górnej wartości krzywej kalibracyjnej przy użyciu standardowego rozcieńczenia próbki 1+24. Odpowiada to wartości 71280 mg/l. W rzadkich wypadkach w próbkach może pojawić się nadmiar antygenu poniżej tego poziomu - patrz Dział 10.6.

## 13 BIBLIOGRAFIA

- Shakib, F & Stanworth D R (1980). Human IgG subclasses in health and disease (Part II). *La Ricerca Clin. Lab.* 10, 561-580.
- Hamilton, R H (1987). Human IgG subclass measurements in the clinical laboratory. *Clin. Chem.* 33, 1707-1725.
- Schur, P H (1987). IgG subclasses – a review. *Annals of Allergy* 58, 89-99.
- Carr-Smith, H.D., Overton, J, Bradwell, A.R. (1997). IgG subclass value assignment to the protein reference preparation CRM470. *Clin. Chem.* Vol. 43, No. 56, PS238.
- Williams, D.R., Wilson, C.T., Carr-Smith, H.D. (2009). Assignment of IgG Subclass Values to the Protein Reference Preparation DA470k. *Clin. Chem.* Vol. 55, No. S6, PS C-90.
- 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".
- Young D. *Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests*, 5<sup>th</sup> ed. AACC Press, 2000.

