



## Zestaw Optilite® do pomiaru inhibitora C1

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

**Kod produktu: NK019.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 inhibitora C1 jest przeznaczony do ilościowego pomiaru *in vitro* poziomu inhibitora C1 w surowicy, osoczu z heparyną litową lub z EDTA, korzystając z analizatora Optilite firmy Binding Site, aby pomóc w zdiagnozowaniu dziedzicznego obrzęku naczynioruchowego i powinien być stosowany łącznie z innymi wynikami laboratoryjnymi i klinicznymi.

### 2 OPIS I WYJAŚNIENIE

Inhibitor C1 (znany również jako inaktywator C1) ma masę 105 kDa i jest znaczącą glikozylowaną białkiem należącym do rodziny serpin. Inhibitor C1 jest ważnym regulatorem klasycznej drogi dopełniacza. Zatrzymuje on aktywację pierwszego uzupełniającego dopełniacza w kaskadzie, w ten sposób ograniczając potencjalnie szkodliwe efekty nadmiernej aktywacji. Działa on poprzez hamowanie działania proteaz serynowych C1s i C1r. Inhibitor C1 jest znaczącym regulatorem reakcji zapalnej. Pomiar poziomu inhibitora C1 pomaga w diagnozie dziedzicznego i nabytego obrzęku naczynioruchowego, które stanowią najczęstsze schorzenia wywołane przez niesprawny dopełniacz (Ref 1-3).

### 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 instrumencie.

### 4 ODCZYNNIKI

- 4.1 **Antysurowica:** Dostarczony w stabilizowanej formie płynnej. Konserwanty: 0,099% azydku sodu, 0,1% kwasu ε-aminokaproнового (EACA), 0,1% 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% azydku sodu, 0,1% EACA oraz 0,01% benzamidyny. Stężenie podane w atęście kontroli jakości uzyskano poprzez porównanie z wewnętrznym wzorcem pierwotnym.
- 4.3 **Bufor reakcyjny:** Zawiera konserwant w postaci 0,099% azydku 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 i użycia 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 skażeniami 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 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. Probki można przechowywać w temperaturze od 2 do 8°C do ośmiu dni, a do roku w temperaturze -20°C lub niższej, po rozdzieleniu na mierzone porcje (Ref 4). Należy unikać powtarzania cykli zamrażania i rozmrażania. Nie należy używać próbek skażonych bakteriami, 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 9).

### 8 METODOLOGIA

#### 8.1 Materiały dostarczone

- 8.1.1 1 Optilite C11 Reagent (Odczynnik Optilite C11) dla 50 testów
- 8.1.2 1 Optilite C11 Calibrator (wzorzec Optilite C11) 2,2 ml
- 8.1.3 1 Optilite C11 High Control (materiał Optilite C11 wysokiej kontroli) 1,5 ml
- 8.1.4 1 Optilite C11 Low Control (materiał Optilite C11 niskiej kontroli) 1,5 ml

#### 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 Rozcieńczalnik Optilite 2, kod wyrobu IK710

#### 8.3 Przygotowanie odczynnika

Przed załadowaniem należy odczynnik wymieszać łagodnie używając inwersji tak, aby nie wytworzył 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 (QCcert019.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 (g/l)
1+4	0,08 - 0,44
1+9	0,16 - 0,88

### 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 atęście QC (QCcert019.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 Pomiar turbidymetryczny nie nadają się do pomiaru wysoce lipemicznych 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 inhibitora C1. Należy wziąć pod uwagę ogólny wywiad kliniczny pacjenta oraz inne wyniki laboratoryjne.
- 10.3 Komunikat „Blank Resp high” (Pusty odczyt wysoki) oznacza, że próbka jest mętna. Należy sprawdzić wzrokowo próbki, które dają taki komunikat i, jeśli jest to konieczne, odwirować je i ponownie przetestować. Wiadomo, że próbki lipemiczne zakłócają badanie i nie powinny być analizowane.
- 10.4 Pomiar ten nie został walidowany z użyciem próbek pediatrycznych.

- 10.5 U pacjentów z dziedzicznym obrzękiem naczynioruchowym zaobserwowano, że inhibitor C1 może tworzyć stabilne kompleksy kowalenne z docelowymi proteazami (Ref 5). Nie poddano ocenie potencjalnego skutku tego zjawiska na wyniki badań pacjentów wykonanych tym urządzeniem.
- 10.6 U pacjentów z nabytym obrzękiem naczynioruchowym zaobserwowano wytwarzanie przeciwciał inhibitora C1 (Ref 6-8). Nie poddano ocenie potencjalnych zakłóceń spowodowanych przez takie przeciwciała na wyniki badań pacjentów wykonanych tym urządzeniem.

## 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.

### Przedział dla surowicy osób dorosłych

Zakres ten uzyskano mierząc stężenie inhibitora C1 w surowicy pobranej od zdrowych dawców amerykańskich i używając do tego pomiaru analizatora Optilite. Ten zakres referencyjny obliczono korzystając z parametrycznej analizy statystycznej i reprezentuje on centralne 95% populacji.

	Numer (n)	Średnia (g/l)	Mediana (g/l)	Przedział 95 percentyla (g/l)
Inhibitor C1	120	0,29	0,29	0,21 - 0,38

## 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 5 różnych próbek, używając 3 partii odczynnika, i korzystając z 5 analizatorów.

Podsumowanie precyzji									
	Średnia (g/l)	W czasie pobrania		Pomiędzy pobraniami		Pomiędzy dniami		Ogółem	
		SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV	SD	% CV
Poziom 1	0,127	0,0024	1,9	0,0072	5,7	0,0059	4,7	0,0096	7,6
Poziom 2	0,165	0,0053	3,2	0,0068	4,1	0,0080	4,9	0,0118	7,1
Poziom 3	0,289	0,0048	1,7	0,0066	2,3	0,0124	4,3	0,0149	5,1
Poziom 4	0,393	0,0065	1,6	0,0074	1,9	0,0174	4,4	0,0200	5,1
Poziom 5*	0,418	0,0083	2,0	0,0075	1,8	0,0160	3,8	0,0195	4,7

\* wykonany przy rozcieńczeniu próbki 1+9

### 12.2 Porównanie

Badanie porównawcze polegało na analizie 223 próbek (w tym 144 próbek o poziomie analitu w zakresie referencyjnym) z wykorzystaniem zestawu do pomiaru inhibitora C1 Optilite oraz alternatywnego, dostępnego komercyjnie testu. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 0,92x + 0,01 \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{porównawczy analizator})$$

$$\text{współczynnik korelacji } r = 0,961 \quad (\text{obliczony przy pomocy regresji liniowej})$$

Badanie porównawcze polegało na analizie 55 sparowanych próbek osocza, zawierających surowicę i EDTA, z wykorzystaniem testu inhibitora C1 Optilite. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 1,01x - 0,01 \quad (y = \text{osocze z EDTA}; x = \text{surowica})$$

$$\text{współczynnik korelacji } r = 0,989 \quad (\text{obliczony przy pomocy regresji liniowej})$$

Badanie porównawcze polegało na analizie 55 sparowanych próbek osocza, zawierających surowicę i heparynę litową, z wykorzystaniem testu inhibitora C1 Optilite. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 0,99x + 0,00 \quad (y = \text{osocze z heparyną litową}; x = \text{surowica})$$

$$\text{współczynnik korelacji } r = 0,990 \quad (\text{obliczony przy pomocy regresji liniowej})$$

### 12.3 Granica oznaczalności

Granica oznaczalności tego testu określona jest jako dolna wartość zakresu pomiarowego, 0,08 g/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 0,070 do 0,472 g/l, korzystając z rozcieńczenia próbki 1+4.

Równanie regresji:  $y = 0,98x + 0,01$  ( $y$  = 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, próbkę surowicy bliską punktowi podejmowania decyzji medycznych oraz próbkę surowicy klinicznej. Nie zaobserwowano znaczących zakłóceń badania przy testowaniu z trójglicerydem (10 g/l), z bilirubiną (200 mg/l) ani z hemoglobina (5 g/l). Zaobserwowano zakłócenia na poziomach Intralipidu 2,5 g/l; wiadomo także, że lipemiczne próbki mogą wpływać na wyniki tego badania. Stąd też próbki lipemiczne nie powinny być analizowane przy pomocy tego testu (szczegóły: patrz Dział 10.3).

Nie są znane zakłócenia spowodowane przez powszechnie używane leki. Dalsze informacje znajdują się w literaturze (Ref 9).

### 12.6 Nadmiar antygenu

Nie zaobserwowano nadmiaru antygenu do poziomu 4-krotnej wielokrotności górnej wartości krzywej kalibracyjnej; odpowiednik 1,8 g/l.

## 13 BIBLIOGRAFIA

- Zuraw B.L. (2003), Diagnosis and management of hereditary angioedema: an American approach *Transfusion and Apheresis Science*, 29, pp 239–245
- Rosen F.S. and Davis A.E. (2005) Deficiencies of C1 inhibitor. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* Vol. 19, No. 2, pp. 251–261
- Gompels M. M., et al (2005) C1inhibitor deficiency: consensus document British Society for Immunology, *Clinical and Experimental Immunology* 139:pp379–394
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 2002
- Cugno M. et al (1990), Plasma levels of C1 inhibitor complexes and cleaved C1 inhibitor in patients with hereditary angioneurotic edema. *J Clin Invest* 85: 1215-1220.
- Alsens J, Bork K, Loos M, (1987), Autoantibody-mediated acquired deficiency of C1 inhibitor. *N Engl J Med* 316: 1360-1366.
- Chevallier A. et al (1996). C1-inhibitor binding monoclonal immunoglobulins in three patients with acquired angioneurotic edema. *J Clin Immunol* 97 (4): 998-1008.
- Fremau-Bacchi V. et al (2002), Prevalence of monoclonal gammopathy in patients presenting with acquired angioedema type 2. *Am J Med* 113 (3) 194-199.
- Young D. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5<sup>th</sup> ed. AACCC Press, 2000