



OPTIMISED PROTEIN SYSTEM

## Zestaw Optilite® IgA

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

**Kod produktu: NK010.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 IgA jest przeznaczony do ilościowego pomiaru *in vitro* poziomu IgA w surowicy, osoczu z heparyną litową lub osoczu EDTA, korzystając z analizatora Optilite firmy Binding Site. Pomiar IgA 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

IgA jest główną klasą immunoglobulin znajdujących się w wydzielinach surowiczo-słuzowych, częścią systemu obronnego dla zewnętrznych powierzchni ciała. Forma monomeryczna składa się z dwóch łańcuchów ciężkich alfa i dwóch lekkich łańcuchów. U ludzi zidentyfikowano dwie podklasy IgA, IgA1 i 2. Normalne poziomy IgA w surowicy są różne, w zależności od wieku. Podwyższone poziomy IgA w surowicy występują przy karmieniu piersią, przewlekłych zakażeniach, schorzeniach wątroby oraz szpiczaku. Obniżone poziomy mogą występować przy pewnych stanach cechujących się utratą białka oraz przy niedoborze odporności (Ref 1-6).

### 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 instrumencie.

### 4 ODCZYNNIKI

**4.1 Antysurowica:** Jest ona monoswoista i dostarczona w stabilizowanej formie płynnej. Zawiera następujące konserwanty: 0,099% azydki sodu, 0,1% kwasu E-amino-n-kapronowego (EACA), 0,5% BSA 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 atęście kontroli jakości uzyskano poprzez porównanie z międzynarodowymi materiałami referencyjnymi ERM-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 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 odpowiednią rękawicę 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 użycia 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

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. Surowicę można przechowywać w temperaturze od 2 do 8°C do siedmiu dni, a dłużej w temperaturze -20°C, po rozdzielaniu na mierzone porcje i zamrożeniu w stanie nierozdzielonym. Należy unikać powtarzania cykli zamrażania i rozmrażania. Nie należy używać próbek surowicy skażonych bakteriami, próbek zawierających cząstki stałe oraz próbek lipemicznych lub hemolizowanych. 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 7).

### 8 METODOLOGIA

#### 8.1 Materiały dostarczone

- 8.1.1 1 Optilite IgA Reagent (odczynnik Optilite IgA) do 100 testów
- 8.1.2 1 Optilite IgA Calibrator (wzorzec Optilite IgA) 1,9 ml
- 8.1.3 1 Optilite IgA High Control (materiał Optilite IgA wysokiej kontroli) 1,5 ml
- 8.1.4 1 Optilite IgA Low Control (materiał Optilite IgA 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 1, kod wyrobu IK709
- 8.2.5 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 (QCcert010.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+0	0,02 - 0,70
1+9	0,20 - 7,00
1+39	0,80 - 28,00
1+99	2,00 - 70,00

### 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 (QCcert010.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 wysoc 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 IgA. Należy wziąć pod uwagę ogólny wywiad kliniczny pacjenta oraz inne wyniki laboratoryjne.
- 10.3 Nie można całkowicie wykluczyć potencjalnego pojawienia się nadmiaru antygenu;

w rzadkich wypadkach próbki z obecnym monoklonalnym IgA 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 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 (g/l)	Mediana (g/l)	Przedział 95 percentyla (g/l)
IgA	258	2,464	2,297	0,845-4,990

### Zakres dla surowicy pediatrycznej (Ref 8)

Zakresy referencyjne zgodne ze Standardyzacją białek, ERM-DA470k (które zastąpiło CRM470) (Ref 8).

Grupa wiekowa (lata)	Numer (n)	Przedział 95 percentyla (g/l)
Mniej niż 1	75	0,00-0,83
1-3	52	0,20-1,00
4-6	41	0,27-1,95
7-9	55	0,34-3,05
10-11	38	0,53-2,04
12-13	38	0,58-3,58
14-15	38	0,47-2,49
16-19	74	0,61-3,48

## 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 1 partii odczynnika, i korzystając z 3 analizatorów.

Podsumowanie precyzji									
	Średnia (g/l)	W czasie pobrania		Pomiędzy pobraniami		Pomiędzy dniami		Ogółem	
		SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV	SD	%CV
Poziom 1	0,482	0,0131	2,7	0,0186	3,9	0,0207	4,3	0,0307	6,4
Poziom 2	0,722	0,0119	1,6	0,0209	2,9	0,0294	4,1	0,0380	5,3
Poziom 3	1,099	0,0209	1,9	0,0247	2,2	0,0537	4,9	0,0627	5,7
Poziom 4	4,012	0,0369	0,9	0,0358	0,9	0,0814	2,0	0,0963	2,4
Poziom 5	6,371	0,0629	1,0	0,0339	0,5	0,1634	2,6	0,1783	2,8

### 12.2 Porównanie

Badanie porównawcze polegało na analizie 121 próbek surowicy (w tym 62 próbek surowic klinicznych i 59 normalnych surowic) z wykorzystaniem zestawu IgA Optilite oraz alternatywnego, dostępnego komercyjnie testu. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 1,00x - 0,02 \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{porównawczy analizator})$$

$$\text{współczynnik korelacji } r = 0,991 \quad (\text{obliczony przy pomocy regresji liniowej})$$

Badanie porównawcze polegało na analizie 74 próbek surowicy (w tym 37 próbek surowic z EDTA i 37 surowic z heparyną litową) z wykorzystaniem zestawu IgA Optilite oraz alternatywnego, dostępnego komercyjnie testu. Analiza regresji Passing-Bablok dała następujące wyniki:

$$y = 0,94x + 0,09 \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{porównawczy analizator})$$

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

### 12.3 Granica oznaczalności

Granica oznaczalności tego testu określona jest jako dolna wartość zakresu pomiarowego, 0,020 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 0,142 do 8,565 g/l, korzystając z rozcieńczenia próbki 1 + 9.

Równanie regresji:  $y = 0,9849x + 0,0716$  ( $y$  = stężenie zmierzone,  $x$  = stężenie teoretyczne),  $r^2 = 0,9979$

### 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 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 9).

### 12.6 Nadmiar antygenu

Nie zaobserwowano nadmiaru antygenu do poziomu 6-krotnej wielokrotności górnej wartości krzywej kalibracyjnej przy użyciu standardowego rozcieńczenia próbki 1+9. Odpowiada to wartości 40 g/l. W rzadkich wypadkach w próbkach może pojawić się nadmiar antygenu poniżej tego poziomu - patrz Dział 10.3.

## 13 BIBLIOGRAFIA

1. Zilva, JF & Pannall, PR (1984) Clinical Chemistry in Diagnosis and Treatment. Publ. Lloyd-Luke (Medical Books) Ltd, London pp 348-352.
2. Bradwell, AR (1995), IgG and IgA Subclasses in Disease. ISBN 0704416239 (available from The Binding Site Ltd.).
3. European Society for Immunodeficiencies (ESID); IgA deficiency diagnostic criteria www.ESID.org
4. Bonilla F., Bernstein L., Khan D., Ballas Z., Chinen J., Frank M., Kobrynski L., Levinson A., Mazer B., Nelson R., Orange J., Routes J., Shearer W., Sorenson R. Practice parameter for the diagnosis and management of primary immunodeficiency. Annals of Allergy, Asthma & Immunology 2005; 94:S1-S63.
5. Yel L. Selective IgA Deficiency. J Clin Immunol 2010; 30:10-16.
6. Aghamohammadi A., Cheraghi T., Gharagozlou M., Movahedi M., Rezaei N., Yeganeh M., Parvaneh N., Abolhassani H., Pourpak Z., Moin M. IgA Deficiency: Correlation Between Clinical and Immunological Phenotypes. J Clin Immunol 2009; 29:130-136.
7. 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".
8. Lockitch G., Halstead AC., Quigley G., MacCallum C. Age- and Sex Specific Pediatric Reference Intervals: Study Design Methods Illustrated by Measurement of Serum Proteins with Behring LN Nephelometer. Clin Chem 1988; 34:1618-1621.
9. Young D. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5<sup>th</sup> ed. AACC Press, 2000.