



Coffret Optilite® IgA LCR

Pour un usage en diagnostic *in vitro*

Référence produit : LK010.L.OPT

Produits fabriqués par:
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.bindingsite.co.uk

Distribué en France par la société :
The Binding Site France, 14 Rue des Glairaux, BP226, 38522 Saint-Egrève Cedex.
Téléphone : 04.38.02.19.19
Fax : 04.38.02.19.20
E-mail : info@bindingsite.fr

Optilite est une marque enregistrée de The Binding Site Group Limited (Birmingham, RU) dans certains pays. D'autres noms de marques ou de produits peuvent être des marques enregistrées de leurs propriétaires respectifs.



1 INDICATIONS

Le coffret Optilite IgA LCR est destiné à la mesure quantitative *in vitro* des IgA dans le liquide céphalorachidien (LCR) et les échantillons appariés de LCR et de sérum à l'aide de l'automate Optilite. La mesure de cette immunoglobuline contribue à l'évaluation de l'incapacité de l'organisme à résister aux maladies infectieuses, en conjonction avec d'autres résultats cliniques et de laboratoire.

2 RESUME ET EXPLICATIONS

Le sérum est la principale source de protéines présente dans le LCR, dont les taux sont régulés par la perméabilité de la barrière hémato-encéphalique et le débit du LCR. Une augmentation des taux de protéine dans le LCR peut être le signe d'un trouble au niveau de la barrière et/ou d'une synthèse (intrathécale) locale d'immunoglobulines (Ig) dans le système nerveux central (SNC)¹. Ces paramètres peuvent être évalués par la mesure des taux d'albumine, d'IgG, d'IgA et d'IgM dans le sérum et le LCR.

Du fait que la source exclusive d'albumine présente dans le LCR est le sang, le rapport albumine LCR/sérum donne une mesure de la fonction de la barrière. Le calcul des rapports LCR/sérum et la comparaison des rapports Ig à la valeur d'albumine LCR/sérum permet de distinguer l'Ig dérivée du sérum et la synthèse intrathécale d'Ig.

L'évaluation de la fonction de la barrière, de la synthèse intrathécale et d'autres analytes variables du LCR peut s'avérer utile pour le diagnostic de divers troubles du SNC. Une augmentation de l'IgA intrathécale dans le LCR est le signe d'infections bactériennes, comme la méningite tuberculeuse.^{1,2}

3 PRINCIPE

La détermination de la concentration d'un antigène soluble en turbidimétrie implique une réaction avec l'antisérum spécifique pour former des complexes insolubles. Lorsque la lumière traverse la suspension formée, une portion de lumière est transmise et focalisée sur une photodiode par un système de lentilles optiques. La quantité de lumière transmise est indirectement proportionnelle à la concentration en protéine spécifique de l'échantillon. Les concentrations sont automatiquement calculées à partir d'une courbe de calibration enregistrée dans l'automate.

4 REACTIFS

- 4.1 **Réactif Latex:** Fourni sous forme liquide stabilisé, conservateurs : azide de sodium à 0,025%, acide E-amino-n-caproïque (EACA) à 0,1% et benzamidine à 0,01% et 0,05% ProClin™.
- 4.2 **Calibrateur et Contrôles:** Pools de sérum humain, fournis sous forme liquide stable. Conservateurs : azide de sodium à 0,099%, EACA à 0,1% et benzamidine à 0,01%. La concentration donnée sur le certificat de contrôle de qualité a été obtenue par comparaison avec le matériel international de référence DA470k.
- 4.3 **Tampon de réaction:** contenant de l'azide de sodium à 0,099% comme conservateur.

5 PRECAUTIONS

Tous les sérum humains fournis dans ce coffret ont été testés et trouvés négatifs pour l'antigène de surface de l'hépatite B (Ag HBs), pour les anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine (HIV1 et HIV2) et pour les anticorps anti-virus de l'hépatite C. Les tests utilisés ont soit été approuvés par la FDA (USA), soit acceptés pour un usage en diagnostic *in-vitro* par l'union européenne (Directive 98/79/EC, Annexe II); cependant ces tests ne peuvent garantir l'absence d'agent infectieux.

Des méthodes de manipulation et traitement appropriées doivent être établies pour tout matériel potentiellement infectieux, incluant entre autres le port de vêtements et d'équipement de protection en permanence. Seul un personnel complètement formé à de telles méthodes doit être autorisé à réaliser ces procédures.

AVERTISSEMENT: Ce produit contient de l'azide de sodium et doit être manipulé avec précaution; des gants et d'autres vêtements de protection appropriés doivent être portés en permanence lors de la manipulation de ce produit. Ne pas ingérer ou mettre en contact avec la peau (spécialement sur les plaies ouvertes) ou les muqueuses. En cas de contact, laver abondamment avec de l'eau et demander en urgence un avis médical. Des azides de métaux explosifs peuvent se former par contact prolongé entre l'azide de sodium et les tuyauteries en plomb et en cuivre; pour éliminer les réactifs, rincer avec un grand volume d'eau afin d'éviter la formation des azides de métaux.

Ce produit ne doit être utilisé que par du personnel formé à l'utilisation stipulée dans le paragraphe Indications. Le suivi strict de ces instructions est essentiel. Les résultats seront considérés comme invalides si d'autres paramètres que ceux mentionnés dans les instructions sont utilisés.

Les réactifs de coffrets de numéros de lots différents NE SONT PAS interchangeables.

6 STOCKAGE ET STABILITE

Le coffret non ouvert doit être stocké à 2-8°C et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret. NE PAS CONGÉLER. Le réactif, le calibrateur et les contrôles peuvent être stockés jusqu'à 1 mois après ouverture à condition que les flacons soient rebouchés afin d'éviter toute évaporation et conservés à 2-8°C au réfrigérateur. Le réactif peut être stocké ouvert sur l'automate Optilite jusqu'à 30 jours à condition que l'automate soit sous tension.

7 PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons de sang doivent être collectés par ponction veineuse et dans le cas du plasma, séparé dès que possible. Laisser coaguler le sang naturellement et séparer le sérum dès que possible afin d'éviter l'hémolyse. Les sérum peuvent être stockés à 2-8°C jusqu'à 3 jours ou peuvent être aliquotés et congelés non dilués à -20°C ou à une température inférieure pour un stockage prolongé. Les cycles répétés de congélation/décongélation doivent être évités. Les échantillons de LCR peuvent être conservés à 2-8°C pendant 7 jours et à -20°C pendant 6 mois³. Les échantillons de LCR doivent être centrifugés avant d'être testés.

Il convient de ne pas utiliser d'échantillons contaminés par des microbes, hémolysés et lipémiques ou tout échantillon contenant des particules de matière. Il incombe à chaque laboratoire d'utiliser toutes les références disponibles et/ou ses propres études pour déterminer les critères de stabilité spécifiques pour ses activités.

8 METHODOLOGIE

8.1 Matériel fourni

- 8.1.1 1 x 60 tests Optilite IgA CSF Reagent
- 8.1.2 1 x 1,9 mL Optilite IgA CSF Calibrator
- 8.1.3 1 x 1,5 mL Optilite IgA CSF High Control
- 8.1.4 1 x 1,5 mL Optilite IgA CSF Low Control

8.2 Matériel requis mais non fourni

- 8.2.1 Équipement pour la collecte et la préparation des échantillons, ex : tubes d'échantillon, centrifugeuse etc.
- 8.2.2 Un automate Optilite entièrement opérationnel et équipé
- 8.2.3 Instructions opératoires de l'automate: Manuel opérateur Optilite, Référence fiche technique INS700.OPT
- 8.2.4 Diluant 3 Optilite, Référence produit IK711
- 8.2.5 Optilite Lavage spécial, Référence produit IK707

8.3 Préparation des réactifs

Avant le chargement, mélanger doucement par inversion en s'assurant de ne pas générer de mousse ou de bulle qui resterait à la surface et qui pourrait interférer avec l'aspiration des réactifs.

8.4 Procédure de test

L'utilisateur doit être familiarisé avec les opérations sur l'automate Optilite avant de réaliser les procédures de tests. L'automate doit être préparé en suivant les instructions du manuel opérateur Optilite.

- 8.4.1 Les paramètres pour ce test sont fournis sous forme de code-barres sur le certificat CQ joint (par ex. QCcert010.L.OPT). « Scannez les code-barres pour charger les paramètres.»
- 8.4.2 Pour les échantillons de sérum, il convient de procéder à la dilution 1+399 (pour davantage de détails, veuillez consulter le manuel d'utilisation d'Optilite (INS700.OPT) fourni avec l'analyseur).

8.5 Gamme de mesure

La gamme de mesure approximative du test est présentée dans le tableau ci-dessous.

Dilutions de l'automate Optilite	Gamme approximative (mg/L)
1+0	0,91 - 20
1+1	1,65 - 40
1+399 (sérum seulement)	330 - 8000

8.6 Interprétation des résultats

Tous les tests immunologiques peuvent présenter un excès d'antigène potentiel. Afin d'identifier les échantillons en excès d'antigène, Optilite vérifie la cinétique de la réaction. Les échantillons qui présentent une cinétique de réaction inhabituelle génèrent une alerte

- un indicateur de haute activité (HA) ; ou
- un indicateur de vérification d'activité (AC)*

Les échantillons qui génèrent l'un ou l'autre indicateur sont automatiquement réévalués à une dilution supérieure. Si un échantillon donne un résultat jugé non plausible, l'échantillon doit être retesté.

Pour davantage de détails sur l'interprétation des indicateurs, consulter le manuel d'utilisation d'Optilite (INS700.OPT) fourni avec l'analyseur.

Remarque importante : Aucune vérification automatisée n'identifiera tous les cas d'excès d'antigène et un très faible pourcentage d'échantillons en excès d'antigène présente une cinétique de réaction normale, ce qui n'active pas l'indicateur HA ou AC.

Il est recommandé que la déclaration suivante accompagne tous les résultats des chaînes légères libres.

«Un excès d'antigène non détecté est un événement rare, mais ne peut pas être exclu. Si des résultats des chaînes légères libres ne sont pas en accord avec d'autres résultats cliniques ou de laboratoire, ou si l'échantillon provient d'un patient qui a déjà montré un excès d'antigène, le résultat doit être vérifié par un nouveau test à une dilution supérieure. Les résultats doivent toujours être interprétés en conjonction avec les autres tests de laboratoire et les conditions cliniques ; toute anomalie doit être discutée avec le laboratoire ayant réalisé les tests»

*L'indicateur AC ne s'affiche que sur les instruments Optilite sur lesquels le logiciel V7.0 est installé.

9 CONTROLE DE QUALITE

Au moins deux niveaux de matériel de contrôle approprié doivent être testés au minimum une fois par jour. De plus, les contrôles doivent être testés après calibration, à chaque changement de lot de réactif et après une maintenance spécifique ou des problèmes mentionnés dans le manuel opératoire Optilite.

Les tests de contrôle de qualité doivent être réalisés en accord avec les dispositions réglementaires et les procédures standardisées de chaque laboratoire.

Les concentrations des contrôles fournis sont indiquées sur le certificat de contrôle de qualité (QCCert010.L.OPT). Les résultats obtenus pour les échantillons ne doivent être validés que si les résultats des contrôles sont compris dans l'intervalle de la concentration cible $\pm 15\%$.

Si un contrôle obtenu à partir d'une courbe de calibration en mémoire est en dehors des valeurs attendues, le test doit être calibré à nouveau. Si après re-calibration, les valeurs des contrôles obtenues à partir de la nouvelle courbe de calibration sont encore en dehors des valeurs attendues, l'automate et les paramètres du test doivent être vérifiés avant de répéter les tests. Si un problème persiste, veuillez contacter le support technique local.

10 LIMITES

- Les tests turbidimétriques ne peuvent pas être utilisés avec des échantillons hautement lipidiques, hémolysés ou contenant des taux élevés de complexes immuns circulants (CICs), du fait du degré imprévisible de déviation de lumière non spécifique que de tels échantillons peuvent générer. Des résultats inattendus doivent être confirmés en utilisant une autre méthode.
- Un diagnostic ne peut pas être fait et un traitement ne peut pas être donné uniquement sur la base des mesures des IgA. L'historique clinique du patient ainsi que d'autres analyses doivent être pris en considération.
- Une contamination peut survenir dans des conditions où les taux d'IgA sont excessivement élevés, par ex. avec des sérum issus de patients souffrant de myélome multiple. Il convient d'isoler le dosage de tels échantillons du dosage des IgA du LCR.
- L'interférence bactérienne n'a pas été évaluée. Les échantillons de LCR doivent être aussi frais que possible pour limiter la croissance bactérienne et tous les échantillons doivent être centrifugés avant d'être testés (cf. section 7).
- Un excès d'antigène potentiel ne peut pas être complètement écarté; dans de rares cas des échantillons avec une IgA monoclonale peuvent donner des résultats faussement bas à cause d'un excès d'antigène. Lorsque ceci est possible ou suspecté, il est recommandé que l'échantillon soit testé à nouveau à une dilution supérieure pour confirmer le résultat.

11 VALEURS ATTENDUES

Les gammes fournies ont été obtenues à partir d'un nombre limité d'échantillons et ne sont fournies qu'à titre indicatif. Les valeurs attendues peuvent varier en fonction de l'âge, du sexe, du type d'échantillon, du régime alimentaire et de la situation géographique. Chaque laboratoire doit vérifier la transférabilité des valeurs attendues à sa population et, si nécessaire, déterminer ses propres valeurs de référence.

Gamma sérique adulte

	Nombre (n)	Moyenne (mg/L)	Médiane (mg/L)	Gamme 95 percentiles (mg/L)			
IgA	258	2464	2297	845	-4990		

Gamma LCR adulte

Intervalle de référence pour les IgA du LCR : < 5 mg/L (après conversion en DA470k).⁴

Il n'existe des valeurs de référence, au premier sens du terme, que pour le rapport LCR/sérum.^{1,4}

12 PERFORMANCES

12.1 Précision

Sérum: L'étude de précision a été réalisée selon les recommandations du guide CLSI EP5-A2 *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods*. L'étude a été réalisée sur 21 jours ouvrés, avec 2 séries par jour. Un utilisateur a évalué 7 échantillons différents, en utilisant 3 lots de réactifs sur 3 automates.

	Moyenne (mg/L)	Résumé de l'étude de précision							
		Intra-essai		Inter-essai		Inter-jours		Total	
	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	
Niveau 1	557	13,5	2,4	22,8	4,1	40,7	7,3	48,6	8,7
Niveau 2	687	19,8	2,9	21,9	3,2	35,2	5,1	45,9	6,7
Niveau 3	1142	17,1	1,5	26,6	2,3	37,8	3,3	49,3	4,3
Niveau 4	2995	69,5	2,3	102,1	3,4	139,3	4,6	186,1	6,2
Niveau 5	3797	78,1	2,1	84,1	2,2	227,2	6,0	254,6	6,7
Niveau 6	6204	223,2	3,6	245,4	3,9	238,1	3,8	408,4	6,6
Niveau 7	7463	203,7	2,7	351,5	4,6	167,0	2,2	439,3	5,7

CSF: L'étude de précision a été réalisée selon les recommandations du guide CLSI EP5-A2 *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods*. L'étude a été réalisée sur 5 jours ouvrés, avec 2 séries par jour. Un utilisateur a évalué 3 échantillons différents, en utilisant 2 lots de réactifs sur 3 automates.

Résumé de l'étude de précision									
	Moyenne (mg/L)	Intra-essai		Inter-essai		Inter-jours		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Niveau 1	3,53	0,09	2,5	0,08	2,3	0,16	4,4	0,20	5,6
Niveau 2	4,59	0,04	0,8	0,05	1,1	0,20	4,2	0,20	4,4
Niveau 3	28,90	0,48	1,7	0,56	1,9	0,40	1,4	0,84	2,9

Sérum : Une étude comparative a été menée en analysant 85 échantillons sériques (y compris 84 échantillons avec des concentrations d'analytes se trouvant dans l'intervalle de référence), à l'aide du coffret Optilite IgA LCR et d'un test alternatif disponible sur le marché. L'analyse de régression de Passing et Bablok a généré les résultats suivants :

$$y = 0,92x + 79,02 \text{ (mg/L)}$$

(y = Optilite; x = automate prédictif)

coefficient de corrélation $r = 0,973$ (calculé par régression linéaire)

LCR : Une étude comparative a été menée en analysant 98 échantillons de LCR (y compris 64 échantillons avec des concentrations d'analytes se trouvant dans l'intervalle de référence), à l'aide du coffret Optilite IgA LCR et d'un test alternatif disponible sur le marché. L'analyse de régression de Passing et Bablok a généré les résultats suivants :

$$y = 1,10x + 0,12 \text{ (mg/L)}$$

(y = plasma sur lithium hépariné; x = sérum)

coefficient de corrélation $r = 0,997$ (calculé par régression linéaire)

12.2 Limite de quantification

La limite de quantification (LdQ) pour ce test est définie comme la valeur basse de la gamme de mesure, 0,91mg/L. L'étude de validation de la LdQ a été réalisée selon les recommandations du guide CLSI EP17-A *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation*.

12.3 Linéarité

Une étude de la linéarité a été réalisée à la suite de l'évaluation CLSI de la linéarité des procédures de mesures quantitatives : Une approche statistique ; ligne directrice approuvée (EP6-A). La linéarité de ce test a été confirmée à l'aide d'un échantillon de LCR dilué en série allant de 1,446 à 44.745mg/L et d'un échantillon de sérum dilué en série allant de 258 à 8930mg/L avec un écart < 10 % par rapport à la linéarité.

12.4 Interférence

Une étude a été réalisée selon le CLSI EP7-A2: tests d'interférences en chimie clinique, Directives Officielles (document CLSI EP7-A2). Des échantillons de sérum et de LCR proches des points de décision médicaux ont été testés. Aucun effet significatif d'interférence de test n'a été observé dans le sérum lors du test avec des triglycérides (500mg/dL), des Intralipides (2000mg/dL), de la bilirubine (100mg/L) ou de l'hémoglobine (5g/L). Aucun effet significatif d'interférence de test n'a été observé dans le LCR lors du test avec de l'hémoglobine (2,5g/L), de la bilirubine (200mg/L), de l'acétaminophène (1324μmol/L) ou de l'acide acétysalicylique (3,63mmol/L).

12.5 Excès d'antigène

Aucun excès d'antigène n'a été observé jusqu'à une concentration de 1,64 fois le point haut de la courbe de calibration à la dilution d'échantillon standard 1+1 et jusqu'à un taux de 1,64 fois le point haut de la courbe de calibration à la dilution d'échantillon 1+399, ce qui équivaut à respectivement 65,61mg/L et 13122mg/L. Dans de rares cas, des échantillons peuvent présenter un excès d'antigène en-dessous de cette concentration (voir la section 8.6).

13 BIBLIOGRAPHIE

- Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci* 2001;184:101-22.
- Regeniter A, Kuhle J, Mehling M, Möller H, Wurster U, Freidank H, Siede WH. A modern approach to CSF analysis: pathophysiology, clinical application, proof of concept and laboratory reporting. *Clin Neurol Neurosurg*. 2009 May;111(4):313-8.
- 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.