



Optilite®

OPTIMISED PROTEIN SYSTEM

Coffret Albumine faible concentration Optilite®

Pour un usage en diagnostic *in vitro*

Référence produit : NK032.L.OPT

Produits fabriqués par:

The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.binding-site.co.uk

The Binding Site France, 14 rue des Glairaux, CS 30026, 38522 Saint Egrève Cedex

Téléphone : 04.38.02.19.19

Fax : 04.38.02.19.20

E-mail : info@binding-site.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

Ce coffret est destiné au dosage quantitatif de l'albumine dans le sérum, l'urine et le liquide céphalo-rachidien (LCR) en utilisant le turbidimètre Optilite de la société Binding Site. Le dosage de l'albumine apporte une aide au diagnostic des maladies rénales et intestinales. Ce test doit être utilisé en conjonction avec d'autres résultats de laboratoire et les informations cliniques.

2 RESUME ET EXPLICATIONS

L'albumine est une chaîne protéique simple de 66kD présente dans le sérum et à de plus faibles concentrations dans d'autres liquides biologiques. Ses fonctions primaires sont de maintenir la pression osmotique, la liaison et le transport de plusieurs substances comme la bilirubine, les acides gras, métaux, hormones et de nombreuses drogues. Une baisse de la concentration sérique de 20-30% peut apparaître suite à un stress environnemental, nutritionnel, traumatique ou toxique. Les néphroses, cirrhoses et inflammations sont associées avec les concentrations faibles en albumine. Des taux d'albumine sérique réduits sont aussi observés chez les patients alités, probablement liés à la redistribution de l'eau. (réfs 1-3).

La détection et le traitement précoce de néphropathie est important dans la prévention de l'insuffisance rénale chez les diabétiques insulinodépendants. Une concentration élevée en microalbumine urinaire est un bon indicateur de lésions glomérulaires chez ces patients. Une augmentation de l'excrétion de microalbumine est aussi un marqueur de futurs problèmes cardiovasculaires dans le diabète sucré non insulinodépendant et se produit également dans d'autres maladies chroniques comme l'hypertension, le cancer et la bronchopneumopathie chronique obstructive (réf. 4, 5).

Le sérum est la source prédominante des protéines présentes dans le LCR, dont les niveaux sont régulés par la perméabilité de la barrière sang/LCR et par le débit du LCR. Une augmentation du niveau des protéines dans le LCR peut être le signe d'un dysfonctionnement de la barrière sang/LCR et / ou de la synthèse locale (intrathécale) des immunoglobulines (Ig) dans le système nerveux central (SNC) (réf. 6).

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 Antisérum: Fourni sous forme liquide stable. Conservateurs : azide de sodium à 0,099%, acide E-amino-n-caproïque (EACA) à 0,1%, acide éthylène diamine-tétracétique (EDTA) à 0,1% et benzamidine à 0,01%.

4.2 Calibrateur et Contrôles: Pools de sérums humains, 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 sérums 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 and 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 d'éliminations appropriées doivent être établies pour tout matériel potentiellement infectieux, incluant, entre autres, le port de vêtements et d'équipement de protection en permanence par les utilisateurs. 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 CONGELER.** Le réactif, le calibrateur et les contrôles peuvent être stockés jusqu'à 3 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 latex 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

Urine : Utiliser des échantillons d'urine fraîchement récoltés: ils doivent être centrifugés avant l'analyse pour éliminer les particules.

LCR : Les échantillons de LCR doivent être testés aussi frais que possible. Ils peuvent être conservés entre 2 et 8°C pendant 7 jours maximum ou peuvent être congelés à -20°C pour une conservation jusqu'à 6 mois (réf 7). Les échantillons doivent être centrifugés avant le test.

Sérum : Les échantillons de sang doivent être prélevés par ponction veineuse, mis à coaguler naturellement et séparer le sérum dès que possible afin d'éviter l'hémolyse. Le sérum peut être conservé à 2-8°C jusqu'à 7 jours avant le test. Pour un stockage prolongé, congeler dans les 24 heures après la collecte pour un maximum de 3 mois à -20°C ou moins. Les cycles de congélation/décongélation répétés doivent être évités. Les sérums contaminés par des bactéries, hémolysés, lipidiques ou contenant des particules ne doivent pas être utilisés. Il est de la responsabilité de chaque laboratoire d'utiliser toutes les références disponibles et/ou de ses propres études pour déterminer les critères spécifiques de stabilité pour son laboratoire (Réf 8).

8 METHODOLOGIE

8.1 Matériel fourni

- 8.1.1 1 x 100 Tests Optilite LLA1b Reagent (Réactif albumine faible concentration Optilite)
- 8.1.2 1 x 2,6mL Optilite LLA1b Calibrator (calibrateur albumine faible concentration Optilite)
- 8.1.3 1 x 1,9mL Optilite LLA1b High Control (contrôle haut albumine faible concentration Optilite)
- 8.1.4 1 x 1,9mL Optilite LLA1b Low Control (contrôle bas albumine faible concentration Optilite)
- 8.1.5 1 x 1,4mL Optilite LLA1b Antigen Excess Control (Contrôle Excès d'antigène Alb LL Optilite)

8.2 Matériel requis mais non fourni

- 8.2.1 Equipement pour la collecte et la préparation des échantillons, ex : tubes échantillons, centrifugeuse etc.
- 8.2.2 Un automate Optilite entièrement opérationnel et équipé
- 8.2.3 Instructions opératoires de l'automate: Manuel opératoire Optilite, Référence fiche technique INS700.OPT
- 8.2.4 Diluant 2 Optilite, Référence produit IK710

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 opératoire Optilite.

- 8.4.1 Les paramètres pour ce test sont fournis sous forme de code-barres sur le certificat CQ joint (par ex. QCcert032.L.OPT). « Scannez les code-barres pour charger les paramètres. »
- 8.4.2 Veuillez-vous assurer que le contrôle Excès d'antigène Alb LL Optilite (Optilite LLA1b Antigen Excess Control) est à bord à chaque fois que ce dosage est utilisé.
- 8.4.3 Pour les échantillons de sérum, il convient de procéder à la dilution 1+199 (pour davantage de détails, veuillez consulter le manuel d'utilisation d'Optilite (INS700.OPT) fourni avec l'analyseur).

8.5 Gamme de mesure

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

Dilution de l'automate Optilite	Gamme approximative (mg/L)
1+0	11 - 333
1+9	110 - 3325
1+49	550 - 16625

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

Dilution de l'automate Optilite	Gamme approximative (mg/L)
1+199	2200 – 66500

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 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 (QCcert032.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 recalibré 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

- 10.1 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.
- 10.2 Un diagnostic ne peut pas être fait et un traitement ne peut pas être donné uniquement sur la base des mesures d'albumine. L'historique clinique du patient ainsi que d'autres analyses doivent être pris en considération.
- 10.3 Ce test n'a pas été validé pour une utilisation sur des échantillons pédiatriques.
- 10.4 Les interférences bactériennes n'ont pas été évaluées. Les échantillons de LCR doivent être aussi frais que possible pour limiter la croissance bactérienne et tous les échantillons doivent être centrifugés avant le test (voir la section 7).

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.

Les gammes de référence ont été transférées à partir d'un coffret alternatif disponible dans le commerce en accord avec le document CLSI EP C28-A3 *Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory* et a été validée en mesurant la concentration en albumine sérique et urinaire de 50 adultes sains en utilisant le Coffret Albumine faible concentration Optilite. Dans la mesure du possible, il est fortement recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres normes.

Intervalle de référence pour l'albumine dans l'urine : <30,0mg/L

Intervalle de référence pour l'albumine dans le LCR : <350mg/L (réf. 9)

Intervalle de référence pour l'albumine dans le sérum : 35000 - 52000 mg/L

12 PERFORMANCES

12.1 Précision

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.

Urine : Un utilisateur a évalué 5 échantillons différents, en utilisant 3 lots de réactif sur 3 automates.

	Moyenne (mg/L)	Intra-essai		Inter-essai		Inter-jours		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Niveau 1	22,98	0,15	0,5	0,57	1,9	0,67	2,2	0,89	3,0
Niveau 2	39,04	0,22	0,6	0,68	1,7	1,04	2,7	1,26	3,2
Niveau 3	153,40	1,54	1,0	1,29	0,8	2,50	1,6	3,21	2,1
Niveau 4*	275,05	2,12	0,8	3,70	1,3	7,78	2,8	8,87	3,2
Niveau 5*	1490,18	13,33	0,9	22,30	1,5	29,35	2,0	39,20	2,6

* réalisé à la dilution échantillon 1+9

LCR : Un utilisateur a évalué 5 échantillons différents, en utilisant 3 lots de réactif sur 3 automates.

	Moyenne (mg/L)	Intra-essai		Inter-essai		Inter-jours		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Niveau 1	145,49	0,98	0,7	1,44	1,0	8,59	5,9	8,77	6,0
Niveau 2	281,51	3,55	1,3	2,19	0,8	14,79	5,3	15,37	5,5
Niveau 3*	439,89	3,72	0,8	6,85	1,6	14,18	3,2	16,18	3,7
Niveau 4*	593,11	5,81	1,0	7,08	1,2	19,13	3,2	21,21	3,6
Niveau 5**	975,24	13,81	1,4	25,08	2,6	74,82	7,7	80,11	8,2

* réalisé à la dilution échantillon 1+9

** réalisé à la dilution échantillon 1+49

Sérum : Un utilisateur a évalué 5 échantillons différents, en utilisant 3 lots de réactif sur 3 automates à la dilution échantillon 1+199.

	Moyenne (mg/L)	Intra-essai		Inter-essai		Inter-jours		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Niveau 1*	4012,83	73,33	1,8	96,21	2,4	132,07	3,3	179,10	4,5
Niveau 2*	14007,33	179,16	1,3	289,26	2,1	526,46	3,8	626,84	4,5
Niveau 3	28501,06	340,92	1,2	261,40	0,9	713,95	2,5	833,23	2,9
Niveau 4	36976,78	478,12	1,3	314,41	0,9	791,26	2,1	976,49	2,6
Niveau 5	54447,24	866,65	1,6	843,34	1,5	1357,89	2,5	1818,29	3,3

* en utilisant 1 lot de réactif sur 4 automates.

12.2 Comparaison

Urine : Une étude de comparaison a été réalisée en analysant 174 échantillons (incluant 98 échantillons avec des taux en analyte dans l'intervalle de référence) en utilisant le Coffret Albumine faible concentration Optilite et un autre test commercialement disponible. L'analyse de régression Passing Bablok a généré les résultats suivants :

$$y = 1,05x - 0,00 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{automate prédicat})$$

Coefficient de corrélation $r = 0,987$ (calculé par régression linéaire)

LCR : Une étude de comparaison a été réalisée en analysant 125 échantillons (incluant 100 échantillons avec des taux en analyte dans l'intervalle de référence) en utilisant le Coffret Albumine faible concentration Optilite et un autre test commercialement disponible. L'analyse de régression Passing Bablok a généré les résultats suivants :

$$y = 1,02x + 9,80 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{automate prédicat})$$

Coefficient de corrélation $r = 0,941$ (calculé par régression linéaire)

Sérum : Une étude de comparaison a été réalisée en analysant 142 échantillons (incluant 84 échantillons avec des taux en analyte dans l'intervalle de référence) en utilisant le Coffret Albumine faible concentration Optilite et un autre test commercialement disponible. L'analyse de régression Passing Bablok a généré les résultats suivants :

$$y = 1,01x - 932,82 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{automate prédicat})$$

Coefficient de corrélation $r = 0,996$ (calculé par régression linéaire)

12.3 Limite de quantification

Urine et LCR : La limite de quantification (LdQ) pour ce test est définie comme la valeur basse de la gamme de mesure, 11mg/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*.

Sérum : La limite de quantification (LdQ) pour ce test est définie comme la valeur basse de la gamme de mesure, 2200mg/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*.

12.4 Linéarité

L'étude de linéarité a été réalisée selon les recommandations du guide CLSI EP6-A *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures*. La linéarité de ce test a été confirmée en utilisant un échantillon dilué en série avec une déviation de linéarité <à 10%.

Echantillon	Gamme (mg/L)
Urine	11 - 333
LCR	11 - 333
Sérum	2200 – 66500

12.5 Interférence

Une étude a été effectuée en suivant le guide CLSI EP7-A2: *Interference Testing in Clinical Chemistry*. Echantillons normaux, échantillons au niveau des seuils de décisions médicales et échantillons anormaux ont été testés.

Urine : Aucune interférence significative n'a été observée lors d'un essai avec de l'urobilinogène (45mg/L), de l'hémoglobine (250mg/L), ou de l'acide ascorbique (200mg/L). Cependant, il existe des interférences avec la bilirubine ; Les échantillons icteriques ne doivent pas être utilisés (cf 10.1)

LCR : Aucune interférence significative n'a été observée lors d'un essai avec de la bilirubine (200mg/L) ou de l'hémoglobine (5g/L).

Sérum : Aucune interférence significative n'a été observée lors d'un essai avec des triglycérides (1000mg/dL), des Intralipides (2000mg/dL), de la bilirubine (200mg/L) ou de l'hémoglobine (5g/L).

12.6 Excès d'antigène

Aucun excès d'antigène n'a été observé jusqu'à un niveau équivalent à 60 fois la valeur du point haut de la courbe de calibration à la dilution standard échantillon 1+0, soit 20000mg/L.

13 BIBLIOGRAPHIE

- 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 Immunochimistry*. 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.

8. 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".
9. 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.