



Coffret Hevylite® IgA Kappa Optilite®

Pour un usage en diagnostic *in-vitro*

Référence produit : NK623.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, CS 30026, 38522 Saint Egrève Cedex
Téléphone: 04.38.02.19.19
Fax: 04.38.02.19.20
E-mail: info@bindingsite.fr

Optilite & Hevylite sont des marques enregistrées 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.



Avertissement : La concentration en IgA kappa obtenue dans un échantillon donné, à partir de coffrets de fournisseurs différents ou de systèmes différents, peut varier du fait des différences de méthodes de dosage et de spécificité des réactifs. Les résultats rendus au clinicien par le laboratoire doivent mentionner le nom du test utilisé pour le dosage d'IgA kappa. Les résultats obtenus à partir de méthodes de dosage ou de systèmes différent(e)s ne sont pas interchangeables. Si, au cours du suivi du patient, la méthode de dosage ou le système utilisé(e) pour déterminer la concentration en IgA kappa est changé(e), des tests supplémentaires doivent être réalisés. Avant de changer de méthode de dosage ou de système, le laboratoire **DOIT** confirmer les valeurs initiales, de référence, pour les patients suivis régulièrement.

1 INDICATIONS

Le coffret Hevylite IgA Kappa permet de quantifier *in vitro* l'IgA kappa (immunoglobuline entière à chaîne lourde IgA et à chaîne légère Kappa) dans le sérum, le plasma EDTA et le plasma héparine lithium sur l'automate Optilite de Binding Site. Le dosage de l'Hevylite IgA Kappa est utilisée avec celui de l'Hevylite IgA Lambda pour calculer le rapport IgA Kappa/IgA Lambda. Le rapport Hevylite IgA Kappa/IgA Lambda peut être utilisé pour la surveillance de patients atteints de myélome multiple à IgA précédemment diagnostiqués et doit être utilisé en association avec d'autres tests de laboratoire et d'autres évaluations cliniques. L'objectif de réponse complète dépend d'autres tests notamment des évaluations de l'immunofixation, de la moelle osseuse et des urines.

2 RESUME ET EXPLICATIONS

Les immunoglobulines sont produites après l'exposition du système immunitaire à un antigène spécifique. Les IgM sont la première classe d'immunoglobulines produites. Avec la maturité de la réponse, les IgG et les IgA peuvent aussi être produites. Les molécules d'immunoglobulines sont constituées de deux chaînes lourdes identiques (α , δ , ϵ , γ ou μ) qui définissent la classe d'immunoglobuline et de deux chaînes légères identiques (κ ou λ). Chaque chaîne légère est liée à une chaîne lourde et les deux chaînes lourdes sont liées de façon covalente au niveau de la région charnière. Chez les individus sains, la gamme de concentration en IgA est de 0,8 – 4,0 g/L¹.

Des concentrations sériques élevées de protéines monoclonales sont une indication d'anomalie sous-jacente telle qu'une Gammapathie Monoclonale de Signification Indéterminée (MGUS), un myélome multiple et d'autres désordres lymphoprolifératifs. Les guides internationaux² recommandent qu'une électrophorèse densitométrique des protéines sériques (SPE) soit faite pour quantifier les protéines monoclonales. Néanmoins, les protéines monoclonales IgA peuvent souvent être masquées par d'autres protéines dans la région β de l'électrophorèse sérique des protéines rendant la quantification imprécise. La néphélométrie/turbidimétrie peut être utilisée dans ce cas pour mesurer les IgA totales mais cela inclura des immunoglobulines non tumorales, et la mesure des IgAk ou IgA λ peut donner une représentation plus précise de la production tumorale. En outre, la quantification des deux IgA (IgAk et IgA λ), le calcul du ratio IgAk/IgA λ et la comparaison avec les valeurs obtenues chez les sujets normaux peut donner des indications plus précises de la clonalité³. L'usage du ratio IgAk/IgA λ permettra également de compenser les changements dans le volume plasmatique.

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% 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 mentionnée sur le certificat de contrôle de la qualité a été obtenue par comparaison avec le matériel international de référence DA470k, à l'aide de préparations d'IgA Kappa et d'IgA Lambda purifiées par affinité.
- 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 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 échantillons peuvent être conservés à 2-8°C jusqu'à 21 jours avant les tests ou congelés à -20°C minimum pour une conservation plus longue. Les cycles répétés de congélation/décongélation doivent être évités. Les sérums lipidiques, hémolysés, contaminés par des bactéries ou contenant des particules de matière ne doivent pas être utilisés. Il est de la responsabilité du laboratoire d'utiliser toutes les références disponibles et/ou les études réalisées dans le laboratoire pour déterminer les critères de stabilité spécifiques au laboratoire (Ref 4)

8 METHODOLOGIE

8.1 Matériel fourni

- 8.1.1 1 x 50 Tests Optilite IgAk Reagent (Réactif IgA κ Optilite)
- 8.1.2 1 x 1,8mL Optilite IgAk Calibrator (calibrateur IgA κ Optilite)
- 8.1.3 1 x 1,4mL Optilite IgAk High Control (contrôle haut IgA κ Optilite)
- 8.1.4 1 x 1,4mL Optilite IgAk Low Control (contrôle bas IgA κ 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 de ce test sont fournis sur les codes à barres du certificat de contrôle de qualité (QCcert623.OPT). Scanner le code à barre 1 et le code à barre 2 pour charger les paramètres.

8.5 Gamme de mesure

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

Dilution de l'automate Optilite	Gamme approximative (g/L)
1+0	0,018-1,12
1+9	0,18-11,2
1+59	1,08-67,2
1+99	1,8-112

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 (QCcert623.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

- 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.
- Le message « Réponse blanc trop élevée » indique que l'échantillon est trouble. Tout échantillon qui produit ce message doit être examiné visuellement et si nécessaire centrifugé puis testé à nouveau. Les échantillons lipémiques sont susceptibles d'interférer avec ce test et ne doivent pas être analysés.
- Les décisions en matière de gestion de patients ne doivent pas être basées uniquement sur les résultats d'IgA Kappa, d'IgA Lambda ou sur le rapport IgA Kappa/IgA Lambda.
- Conformément à d'autres analyses de protéines monoclonales, les concentrations ou les rapports Hevylite ne sont pas destinés à remplacer les autres évaluations cliniques ou de laboratoire requises pour classer la réponse des patients, et devraient être utilisés en association avec ces autres examens.
- Lors de la surveillance de la réponse des patients, les fluctuations des rapports IgA Kappa/IgA Lambda doivent être utilisées en association avec les autres évaluations cliniques et de laboratoire requises pour classer la réponse des patients.
- Les immunoglobulines monoclonales sont hautement variables. Tout échantillon donnant des résultats suspects doit être retesté à la dilution supérieure (concentration plus faible) pour prévenir tout excès d'antigène.

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.

Gamme sérique adulte

Ces gammes ont été obtenues en mesurant la concentration en IgA Kappa et IgA Lambda de sérums de donneurs de sang adultes américains. L'intervalle de référence a été calculé en utilisant des statistiques non-paramétriques et représente les 95 percentiles de la population.

	Nombre (n)	Moyenne	Médiane	Gamme 95 percentiles
IgA Kappa (g/L)	120	1,441	1,292	0,588 – 2,984
IgA Lambda (g/L)	120	1,013	0,915	0,432 – 2,035
IgA Kappa/ IgA Lambda ratio	120	1,451	1,401	0,911 – 2,416

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. Un utilisateur a évalué 6 échantillons différents, en utilisant 4 lots de réactifs sur 6 automates.

Résumé de l'étude de précision									
	Moyenne (g/L)	Intra-essai		Inter-essais		Inter-jours		Total	
		SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%	SD	CV%
Niveau 1	0,298	0,0063	2,1	0,0093	3,1	0,0170	5,7	0,0203	6,9
Niveau 2	0,853	0,0148	1,7	0,0190	2,2	0,0228	2,7	0,0332	3,9
Niveau 3	1,650	0,0459	2,8	0,0366	2,2	0,0891	5,4	0,1067	6,5
Niveau 4	2,449	0,0474	1,9	0,0705	2,9	0,0945	3,9	0,1271	5,2
Niveau 5	3,379	0,1091	3,1	0,1208	3,4	0,1443	4,0	0,2175	6,1
Niveau 6	9,115	0,1243	1,4	0,1500	1,7	0,4110	4,5	0,4548	5,0

12.2 Comparaison

Une étude de comparaison a été réalisée en analysant 241 échantillons (28 normaux et 213 pathologique) en utilisant le Coffret Hevylite IgA Kappa Optilite et un autre test commercialement disponible. L'analyse de régression Passing Bablok a généré les résultats suivants :

$$y = 1,10x + 0,01 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{automate prédictif})$$

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

Une étude comparative a été réalisée en analysant 75 paires d'échantillon de sérums et plasma Héparine Lithium en utilisant le Coffret Hevylite IgA Kappa Optilite. L'analyse de régression de Passing Bablok a générée les résultats suivant:

$$y = 0,98x + 0,00 \text{ g/L} \quad (y = \text{plasma héparine lithium}; x = \text{sérum})$$

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

Une étude comparative a été réalisée en analysant 50 paires d'échantillon de sérums et plasma EDTA en utilisant le Coffret Hevylite IgA Kappa Optilite. L'analyse de régression de Passing Bablok a générée les résultats suivant:

$$y = 0,97x + 0,00 \text{ g/L} \quad (y = \text{EDTA plasma}; x = \text{sérum})$$

Coefficient de corrélation $r = 0,994$ (calculé par régression linéaire)

12.3 Limite de quantification

La limite de quantification (LdQ) pour ce test est définie comme la valeur basse de la gamme de mesure, 0,018g/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 a été montrée sur la gamme de l'analyte allant de 0,18 à 11,2g/L avec une déviation de linéarité $< 10\%$.

12.5 Interférence

Une étude a été réalisée selon le CLSI EP7-A2: tests d'interférences en chimie clinique, Directives Officielles (document CLSI EP7-A2). Un échantillon normal, un échantillon proche du seuil pathologique ainsi qu'un échantillon anormal ont été testés. Aucune interférence significative n'a été observée en présence de bilirubine (200mg/L), l'hémoglobine (5g/L) ou de triglycérides (1000mg/dL). Des intralipides à 250mg/dL ont montré des signes d'interférence, de plus les échantillons lipémiques sont connus pour interférer avec ce test. Par conséquent, les échantillons lipémiques ne doivent pas être analysés en utilisant ce test. (cf. Paragraphe 10.2 pour des détails).

Aucune interférence significative avec les médicaments communément utilisés n'a été détectée. Pour plus d'informations, veuillez consulter la littérature⁵.

13 BIBLIOGRAPHIE

- Protein Reference Unit Handbook of Clinical Immunochimistry (1999) Ed. A. Milford Ward, Pamela G. Riches, R. Fifield and A. M. Smith. PRU Publications, Sheffield, 134-136.
- Smith A, Wisloff F and Samson D (2005) Guidelines on the diagnosis and management of multiple myeloma 2005, Br. J Haematology 132, 410-451.
- Bradwell A R, Harding S, Drayson M, Mead G. Novel nephelometric assays give a sensitive measure of residual disease in multiple myeloma (MM). Br J Haem 2008; 141(s1): p39: Abstract 107.
- 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, 5th ed. AACC Press, 2000.