



Coffret IgG Lambda Optilite® Hevylite®

Pour un usage diagnostique *in vitro* uniquement

Code de produit : NK622.OPT

Produit fabriqué par :
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.bindingsites.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

Optilite et Hevylite sont des marques déposées de The Binding Site Group Limited (Birmingham, RU) dans certains pays. D'autres noms de marques ou de produits peuvent être des marques commerciales de leurs titulaires respectifs.



Avertissement : les résultats du test IgG Lambda Hevylite dans un échantillon donné, tels que déterminés par des tests issus de différents fabricants, peuvent varier en raison des différences dans les méthodes de test et de la spécificité des réactifs. Les résultats rendus par le laboratoire au médecin doivent inclure l'identité du test IgG Lambda Hevylite utilisé. Les valeurs obtenues avec différentes méthodes de test ne sont pas interchangeables. Si, au cours du suivi d'un patient, la méthode de test utilisée pour déterminer les taux d'IgG Lambda Hevylite est modifiée, un test séquentiel supplémentaire doit être effectué. Avant de modifier les tests, le laboratoire DOIT confirmer les valeurs de base pour les patients suivis.

1 INDICATIONS

Le coffret Hevylite IgG Lambda permet de quantifier *in vitro* l'IgG Lambda (immunoglobuline entière à chaîne lourde IgG et à chaîne légère Lambda) dans le sérum, le plasma EDTA et le plasma sur lithium hépariné sur l'automate Optilite de The Binding Site. La mesure de l'IgG Lambda Hevylite est utilisée avec celle de l'IgG Kappa Hevylite pour calculer le rapport IgG Kappa/IgG Lambda. Le rapport IgG Kappa/IgG Lambda Hevylite peut être utilisé pour le suivi de patients préalablement diagnostiqués comme étant atteints de myélome multiple à IgG et 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 RÉSUMÉ ET EXPLICATION

Les immunoglobulines sont produites après avoir exposé le système immunitaire à des antigènes spécifiques. 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 , γ ou μ), qui définissent la classe d'immunoglobuline, et de deux chaînes légères identiques (Kappa, κ ou Lambda, 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 IgG varie entre 6,0 et 16,0 g/L (Réf. 1). Des concentrations sériques élevées de protéines monoclonales indiquent une anomalie sous-jacente, telle qu'une gammopathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS), un myélome multiple et d'autres troubles lymphoprolifératifs. Les directives internationales recommandent une électrophorèse des protéines sériques ou une quantification néphéломétrique des immunoglobulines comme outils de suivi de la maladie des patients (Réf. 2), associés à d'autres tests, notamment la cytométrie en flux et l'analyse des chaînes légères libres sériques (Réf. 3). Les tests néphéломétriques d'IgG totales incluent les immunoglobulines non tumorales et la mesure des IgG Kappa ou IgG Lambda peut fournir une représentation plus précise de la production tumorale. Par ailleurs, la quantification des IgG Kappa et des IgG Lambda, le calcul du rapport IgG Kappa/IgG Lambda et la comparaison avec des valeurs relevées chez des sujets sains peuvent donner une indication plus précise de la clonalité (Réf. 4, 5, 6). De plus, des modifications du rapport IgG Kappa/IgG Lambda et sa normalisation par rapport à des gammes de valeurs normales devraient contribuer au suivi de la maladie des patients. L'utilisation du rapport IgG Kappa/IgG Lambda compensera également tout changement au niveau du volume plasmatique et corrigera les variations de demi-vie dues à la saturation des récepteurs.

3 PRINCIPE

La détermination de la concentration d'antigènes solubles par des méthodes turbidimétriques implique une réaction avec un antisérum spécifique pour former des complexes insolubles. Quand de la lumière passe à travers la suspension formée, une partie de la lumière est transmise et concentrée sur un photodiode par un système de lentilles optiques. La quantité de lumière transmise est indirectement proportionnelle à la concentration de protéines spécifiques de l'échantillon. Des concentrations sont automatiquement calculées en référence à une courbe de calibration enregistrée dans l'instrument.

4 RÉACTIFS

- 4.1 **Antisérum :** Fourni sous forme liquide stabilisée. Conservateurs : azoture de sodium à 0,099%, acide E-amino-n-caproïque (EACA) à 0,1% et benzamidine à 0,01%.
- 4.2 **Calibrateur et contrôles :** Sérum humain poolé, fourni sous forme liquide stabilisée. Contient de l'azoture de sodium à 0,099 %, de l'EACA à 0,1 % et de la benzamidine à 0,01 % à titre de conservateurs. La concentration mentionnée sur le certificat de contrôle de la qualité est obtenue à partir d'études comparatives avec le matériau de référence internationale DA470K, à l'aide de préparations IgG Kappa et IgG Lambda purifiées par affinité.
- 4.3 **Tampon de réaction :** contient de l'azoture de sodium à 0,099 % à titre de conservateur.

5 AVERTISSEMENTS

Tous les donneurs du sérum humain fourni dans ce coffret ont été testés et ont réagi négativement à l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) et aux anticorps dirigés contre le virus de l'immunodéficience humaine (VIH1 et VIH2) et contre le virus de l'hépatite C. Les tests utilisés ont été homologués par la FDA (aux Etats-Unis) ou autorisés pour un usage diagnostique *in vitro* dans l'Union européenne (directive 98/79/CE, Annexe II). Ces tests ne peuvent toutefois pas garantir l'absence de tout agent infectieux. Des méthodes de manipulation et d'élimination appropriées doivent être mises en place comme pour tout matériel potentiellement infectieux, ce qui inclut, sans limitation aucune, le port permanent par les utilisateurs d'un équipement et de vêtements de protection adaptés. Seul le personnel dûment formé à ces méthodes doit être autorisé à réaliser ces procédures.

ATTENTION : Ce produit contient de l'azoture de sodium et doit être manipulé avec précaution. Il convient dès lors de porter des gants et tout autre vêtement de protection approprié tout au long de la manipulation de ce produit. Ne pas ingérer et éviter tout contact avec la peau (en particulier la peau éraflée ou les plaies ouvertes) ou les muqueuses. En cas de contact, laver abondamment à l'eau et consulter un médecin de toute urgence. Des azotures métalliques explosifs peuvent se former en cas de contact prolongé entre l'azoture de sodium et des tuyaux en plomb ou en cuivre. À l'élimination du réactif, rincer abondamment à l'eau afin d'éviter toute accumulation d'azoture.

Ce produit ne doit être utilisé que par du personnel disposant d'une formation adéquate, aux fins établies dans les Indications. Il est recommandé de suivre strictement ces instructions. La validité des résultats obtenus en utilisant des paramètres autres que ceux indiqués ne peut être garantie.

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

6 STOCKAGE ET STABILITÉ

Le coffret non ouvert doit être conservé entre 2 et 8 °C et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption mentionnée sur l'étiquette de la boîte du coffret. NE PAS CONGÉLER. Le réactif, le calibrateur et les contrôles peuvent être conservés jusqu'à trois mois après l'ouverture, à condition que le bouchon soit mis pour éviter toute évaporation, entre 2 et 8 °C au réfrigérateur. Le réactif peut être stocké sans bouchon sur l'automate Optilite pendant 28 jours maximum, à condition de le laisser sous tension.

7 PRÉLÈVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons doivent être prélevés par ponction veineuse et, dans le cas du plasma, séparés dès que possible. Laisser le sang coaguler et séparer le sérum dès que possible afin d'émpêcher l'hémolyse. Les échantillons peuvent être stockés jusqu'à 21 jours entre 2 et 8 °C, sinon être aliquotés et congelés à -20 °C ou une température inférieure. Les congélations/décongélations successives doivent être évitées. Il convient de ne pas utiliser d'échantillons contaminés par des microbes, hémolysés et lipémiques, ni d'échantillons contenant des particules de matière. Il est de la responsabilité du laboratoire d'utiliser toutes les références disponibles et/ou ses propres études pour déterminer les critères spécifiques de stabilité pour son laboratoire (Réf. 7).

8 MÉTHODOLOGIE

Remarque : Pour améliorer l'interprétation des résultats, le rapport IgG Kappa/IgG Lambda doit être déterminé, les échantillons doivent par conséquent aussi être testés en utilisant le coffret IgG Kappa Hevylite Optilite de The Binding Site (NK621.OPT).

8.1 Matériels fournis

- 8.1.1 1 x 50 Tests Optilite IgG Reagent (Réactif IgG Optilite)
8.1.2 1 x 2.1mL Optilite IgG Calibrator (Calibrateur IgG Optilite)
8.1.3 1 x 1.5mL Optilite IgG High Control (Contrôle haut IgG Optilite)
8.1.4 1 x 1.5mL Optilite IgG Low Control (Contrôle bas IgG Optilite)
8.1.5 1 x 1.8mL IgG Antigen excess Control (Contrôle de l'excès d'antigène IgG Optilite)

8.2 Matériels nécessaires mais non fournis

- 8.2.1 Matériel nécessaire au prélèvement et à la préparation des échantillons de test : tubes, centrifugeuse, etc.
8.2.2 Automate Optilite parfaitement opérationnel et équipé.
8.2.3 Instructions d'utilisation de l'automate en question : Manuel d'utilisation Optilite, code d'insert INS700.OPT
8.2.4 Diluant 2 Optilite, code de produit : IK710

8.3 Préparation des réactifs

Avant de charger des réactifs, les mélanger doucement par inversion en évitant la formation de bulles ou de mousse en surface, car celles-ci peuvent interférer avec l'aspiration des réactifs.

8.4 Procédure de test

L'utilisateur doit être familiarisé avec le fonctionnement de l'automate Optilite avant d'essayer de réaliser les procédures de test. L'automate doit être préparé en suivant les instructions du Mode d'emploi Optilite.

- 8.4.1 Les paramètres pour ce test sont fournis sous forme de code-barres sur le certificat CQ joint (QCcert622.OPT). Scanner le code-barres 1 puis le code-barres 2 pour charger les paramètres.
8.4.2 Veiller à ce que le contrôle d'excès d'antigène IgG Lambda Optilite soit chargé dans l'automate en permanence quand ce test est utilisé.

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	0,075 – 0,875
1+4	0,375 – 4,375
1+19	1,5 – 17,5
1+79	6 – 70
1+119	9 - 105

9 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Au moins deux niveaux de matériel de contrôle approprié doivent être testés au moins une fois par jour. De plus, les contrôles doivent être testés après calibration, avec chaque nouveau lot de réactif et après une maintenance spécifique ou un problème décrit dans le Mode d'emploi Optilite.

Les tests de contrôle qualité doivent être exécutés conformément aux dispositions réglementaires et à la procédure standard de chaque laboratoire.

Les concentrations des contrôles fournis sont reprises sur le certificat CQ joint (QCcert622.OPT). Les résultats des échantillons obtenus ne doivent être acceptés que si les résultats de contrôle sont à $\pm 15\%$ de la/des concentration(s) indiquée(s).

En cas de contrôle hors gamme d'acceptation avec une courbe de calibration enregistrée, le test doit être recalibré. Si, après la recalibration, les valeurs du contrôle mesurées avec la nouvelle courbe sont toujours hors gamme, l'instrument ainsi que les paramètres du test doivent être vérifiés avant de relancer le test. Si le problème persiste, contacter le service technique local.

10 LIMITES

- 10.1 Les tests en turbidimétrie ne sont pas applicables à la mesure d'échantillons hautement lipémiques ou hémolysés ou d'échantillons contenant des taux élevés de complexes immuns circulants (CIC), en raison du degré imprévisible de diffusion de lumière non spécifique que de tels types d'échantillons peuvent générer. Tout résultat inattendu doit être confirmé par le biais d'une autre méthode de test alternative.
- 10.2 Les décisions relatives à la prise en charge des patients ne doivent pas se fonder sur les seules valeurs des IgG Kappa, IgG Lambda ou du rapport IgG Kappa/IgG Lambda.
- 10.3 Excès d'antigène : même si bon nombre d'échantillons contenant des taux élevés d'IgG Lambda monoclonales sont utilisés pour définir les limites de la réaction de prozone, le caractère imprévisible de clones individuels signifie qu'un excès d'antigène non repéré est toujours possible. La composition en acides aminés de l'immunoglobuline produite par un clone de lymphocyte B influencera la concentration à laquelle un échantillon peut présenter un excès d'antigène avec le test Hevylite.
- 10.4 La protection par avertissement lors du contrôle de l'excès d'antigène (étiquetage « limite d'antigène basse ») peut être rencontrée avec des résultats IgG Lambda.
- 10.5 Les immunoglobulines monoclonales sont hautement variables. Tout échantillon donnant des résultats inattendus doit être restesté avec une 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 sont fournies à titre indicatif uniquement. Les valeurs attendues peuvent varier avec l'âge, le sexe, le type d'échantillon, le régime alimentaire et la localisation géographique. Chaque laboratoire doit vérifier la transférabilité des valeurs attendues sur sa propre population et, si nécessaire, déterminer son propre intervalle de référence.

Gamme sérique adulte

Cet intervalle de référence a été obtenu en mesurant la concentration en IgG Kappa et IgG Lambda du sérum prélevé chez des donneurs de sang adultes sains au Royaume-Uni, à l'aide de ce test sur le BN® II. L'intervalle de référence a été calculé à l'aide de statistiques non paramétriques et représente les 95 % de la population. Cela a été vérifié sur l'Optilite, à l'aide de sérum prélevés sur 50 donneurs de sang aux États-Unis.

	Nombre (n)	Moyenne	Médiane	Gamme 95e percentile
IgG Kappa (g/L)	130	6,9	6,85	4,03 - 9,78
IgG Lambda (g/L)	130	3,84	3,81	1,97 - 5,71
Rapport IgG Kappa/IgG Lambda	130	1,86	1,87	0,98 - 2,75

* BNII est une marque commerciale de Siemens Healthcare Diagnostics Inc.

12 PERFORMANCES

12.1 Précision

L'étude de précision a été réalisée selon la directive CLSI EP5-A2 *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods* (Évaluation des performances de précision des méthodes cliniques de mesures quantitatives). L'étude s'est déroulée sur 21 jours de travail à raison de deux séries par jour. Un utilisateur a analysé 6 échantillons différents en utilisant 4 lots de réactifs sur 3 automates.

Résumé de la précision								
	Moyenne (g/L)	Intra-essai		Inter-essai		Inter-jour		Total
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	
Niveau 1	2,214	0,139	6,3	0,204	9,2	0,180	8,1	0,305
Niveau 2*	1,514	0,101	6,6	0,091	6,0	0,133	8,8	0,190
Niveau 3*	2,488	0,092	3,7	0,114	4,6	0,215	8,7	0,261
Niveau 4	4,398	0,195	4,4	0,201	4,7	0,366	8,3	0,464
Niveau 5	6,845	0,109	1,6	0,365	5,3	0,373	5,5	0,533
Niveau 6	14,986	0,461	3,1	0,476	3,2	0,792	5,3	1,033

* réalisé avec une dilution d'échantillon de 1+4

12.2 Comparaison

Une étude comparative a été réalisée en analysant 73 échantillons (dont 40 sérum sains et 33 sérum cliniques) à l'aide du Coffret IgG Lambda Optilite et d'un test alternatif

disponible dans le commerce. L'analyse de régression de Passing et Bablok a générée les résultats suivants :

$$y = 1,05x - 0,29 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{Optilite} ; x = \text{analyseur de prédicat})$$

$$\text{coefficient de corrélation } r = 0,967 \quad (\text{calculé par régression linéaire})$$

Une étude comparative a été réalisée en analysant 57 sérum appariés ainsi que des échantillons de plasma sur lithium hépariné à l'aide du coffret IgG Lambda Optilite. L'analyse de régression de Passing et Bablok a générée les résultats suivants :

$$y = 0,98x + 0,05 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{plasma sur lithium hépariné} ; x = \text{sérum})$$

$$\text{coefficient de corrélation } r = 0,961 \quad (\text{calculé par régression linéaire})$$

Une étude comparative a été réalisée en analysant 57 sérum appariés ainsi que des échantillons de plasma EDTA à l'aide du coffret IgG Lambda Optilite. L'analyse de régression de Passing et Bablok a générée les résultats suivants :

$$y = 1,01x - 0,07 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{plasma EDTA} ; x = \text{sérum})$$

$$\text{coefficient de corrélation } r = 0,963 \quad (\text{calculé par régression linéaire})$$

12.3 Limite de quantification

La limite de quantification pour ce test est définie comme la partie inférieure de la plage de mesure, 0,0750 g/L. L'étude de validation de la limite de quantification s'appuyait sur la directive CLSI EP17-A *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantification* (Protocoles pour la détermination des limites de détection et des limites de quantification).

12.4 Linéarité

Une étude de la linéarité a été réalisée à la suite de l'évaluation CLSI de la linéarité des procédures de mesures quantitative : Une approche statistique ; ligne directrice approuvée (EP6-A). La linéarité de ce test a été confirmée à l'aide d'un échantillon de sérum dilué en série allant de 1,380 à 19,3 g/L avec un écart < 10 % par rapport à la linéarité.

12.5 Interférence

Une étude a été réalisée en suivant la directive CLSI EP7-A2 : *Interference Testing in Clinical Chemistry, Approved Guideline* (Test d'interférence dans la chimie clinique, Directive approuvée). Un échantillon de sérum sain, des échantillons de sérum proches du seuil pathologique et des échantillons de sérum anormaux ont été testés. Aucun effet significatif d'interférence de test n'a été observé lors du test mené avec des triglycérides (1 000 mg/dL), de l'Intralipid (2 000 mg/dL), de la bilirubine (200 mg/L) ou de l'hémoglobine (5 g/L).

Aucune interférence significative n'a été rencontrée avec les médicaments communément utilisés.

13 BIBLIOGRAPHIE

1. Protein Reference Unit Handbook of Clinical Immunochemistry (1999) Ed. A. Milford Ward, Pamela G. Riches, R. Fifield and A. M. Smith. PRU Publications, Sheffield, 134-136.
2. Dimopoulos M, Kyle R, Fermand JP, Rajkumar SV, San MJ, Chanan-Khan A et al. Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3. *Blood* 2011; 117(18):4701-4705.
3. Rajkumar et al, Consensus recommendations for the uniform reporting of clinical trials: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 1. *Blood* 2011; 117(18):4691-4695.
4. Bradwell AR, Harding SJ, Fourrier NJ, Wallis GLF, Drayson NT, Carr-Smith HD et al. Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin κ/λ ratios. *Clin. Chem.* 2009; 55 (9):1646-1655.
5. Ludwig H, Milosavljevic D, Zoyer N, Faint JM, Bradwell AR, Hubl W, Harding SJ. Immunoglobulin heavy/light chain ratios improve paraprotein detection and monitoring, identify residual disease and correlate with survival in multiple myeloma patients. *Leukemia*. 2012 Jul 17. doi: 10.1038/leu.2012.197.
6. Bradwell A, Harding S, Fourrier N, Mathiot C, Attal M, Moreau P, Harousseau JL, Avet-Loiseau H. Prognostic utility of intact immunoglobulin Igκ/Igλ ratios in multiple myeloma patients. *Leukemia*. 2012 Jun 13. doi: 10.1038/leu.2012.159
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".