



Coffret IgM Kappa Optilite® Hevylite®

Pour un usage diagnostique *in vitro* uniquement

Code de produit : NK625.OPT

Produit fabriqué 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

Optilite, SPAPLUS 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 IgM Kappa 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 IgM Kappa 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'IgM Kappa Hevylite en série 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 IgM Kappa **Hevylite** Optilite est destiné à la détermination quantitative *in vitro* des IgM Kappa (immunoglobuline entière combinant une chaîne lourde IgM et une chaîne légère Kappa) dans le sérum, le plasma sur lithium hépariné et le plasma EDTA à l'aide de l'automate Optilite de The Binding Site. La mesure de l'IgM Kappa Hevylite est utilisée avec celle de l'IgM Lambda Hevylite pour calculer le rapport IgM Kappa/IgM Lambda. Ce test doit être utilisé en conjonction avec d'autres résultats de laboratoire et informations cliniques.

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 , ϵ , 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 IgM varie entre 0,5 et 2,0 g/L (Réf. 1).

Des concentrations sériques élevées de protéines monoclonales indiquent une anomalie sous-jacente, telle qu'une gammapathie monoclonale de signification indéterminée (MGUS), un myélome multiple, une macroglobulinémie de Waldenström et d'autres troubles lymphoprolifératifs. Il est recommandé de réaliser une électrophorèse densitométrique des protéines sériques (SPE) pour quantifier les protéines monoclonales (Réf. 2). La turbidimétrie peut aussi être utilisée dans ce cas pour mesurer les IgM totales mais cela inclura des immunoglobulines non tumorales, et la mesure des IgM κ ou IgM λ peut donner une représentation plus précise de la production tumorale. L'usage du rapport IgM κ /IgM λ permettra également de compenser les variations du volume plasmatique et des hématocrites.

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 une 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 Réactif Latex : Fourni sous forme liquide stabilisée. Conservateurs : azoture de sodium à 0,099%, acide E-amino-n-caproïque (EACA) à 0,1%, benzamidine à 0,01% et ProClin™ à 0,05%.

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 IgM Kappa et IgM 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 États-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 CONGELER.** 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 30 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'empêcher l'hémolyse. Les sérums peuvent être stockés jusqu'à 21 jours entre 2 et 8 °C, sinon être aliquotés et congelés à -20 °C ou une température inférieure (Réf. 3). Les congélations/décongélations successives doivent être évitées. Il convient de ne pas utiliser d'échantillons et de sérums contaminés par des microbes, hémolysés et lipémiques, ni d'échantillons ou de sérums 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. 4).

8 MÉTHODOLOGIE

Remarque : pour améliorer l'interprétation des résultats, le rapport IgM Kappa/IgM Lambda doit être déterminé, les échantillons doivent par conséquent aussi être testés en utilisant le coffret IgM Lambda **Hevylite** Optilite de The Binding Site (NK626.OPT).

8.1 Matériels fournis

- 8.1.1 1 x 50 Tests *Optilite IgMk Reagent* (Réactif IgMk Optilite)
- 8.1.2 1 x 1.8mL *Optilite IgMk Calibrator* (Calibrateur IgMk Optilite)
- 8.1.3 1 x 1.4mL *Optilite IgMk High Control* (Contrôle haut IgMk Optilite)
- 8.1.4 1 x 1.4mL *Optilite IgMk Low Control* (Contrôle bas IgMk 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 (QCcert625.OPT). Scanner le code-barres 1 puis le code-barres 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	0,02 – 0,50
1+9	0,2 – 5,0
1+89	1,8 – 45,0
1+299	6,0 – 150,0

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 (QCcert625.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

- 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 méthode de test alternative.
- Les décisions relatives à la prise en charge des patients ne doivent pas se fonder sur les seules valeurs des IgM Kappa, IgM Lambda ou du rapport IgM Kappa/IgM Lambda.
- Excès d'antigène** : même si bon nombre d'échantillons contenant des taux élevés d'IgM Kappa 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**.
- La protection par avertissement lors du contrôle de l'excès d'antigène (étiquetage « limite d'antigène basse ») peut être rencontrée avec des résultats IgM Kappa.
- Les immunoglobulines monoclonales sont hautement variables. Tout échantillon donnant des résultats inattendus doit être retesté avec une dilution supérieure (concentration plus faible) pour prévenir tout excès d'antigène.
- Les résultats d'échantillons prélevés sur des patients atteints du syndrome d'hyperviscosité ou de cryoglobulinémie peuvent ne pas être rapportés fidèlement.

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 IgM Kappa et IgM Lambda du sérum prélevé sur 147 donneurs de sang adultes sains au Royaume-Uni, à l'aide de ce test sur SPAPLUS. 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 sérums prélevés sur 50 donneurs de sang.

	Moyenne	Médiane	Gamme 95e percentile
IgM kappa (g/L)	0,71	0,63	0,19 – 1,63
IgM lambda (g/L)	0,39	0,35	0,12 – 1,01
Rapport IgM Kappa/IgM Lambda	1,85	1,81	1,18 – 2,74

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 8 échantillons différents en utilisant 3 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*	0,097	0,001	1,1	0,002	2,1	0,005	5,4	0,006 5,9
Niveau 2*	0,146	0,002	1,2	0,004	2,7	0,008	5,3	0,009 6,1
Niveau 3*	0,219	0,003	1,2	0,007	3,2	0,010	4,5	0,012 5,6
Niveau 4	0,326	0,003	1,0	0,015	4,5	0,000	0,0	0,015 4,6
Niveau 5	1,194	0,013	1,1	0,046	3,8	0,000	0,0	0,048 4,0
Niveau 6	2,050	0,025	1,2	0,093	4,5	0,000	0,0	0,096 4,7
Niveau 7	2,603	0,045	1,7	0,130	5,0	0,026	1,0	0,140 5,4
Niveau 8	3,944	0,058	1,5	0,179	4,5	0,113	2,9	0,220 5,6

* réalisé avec une dilution d'échantillon de 1+0

12.2 Comparaison

Une étude comparative a été réalisée en analysant 263 échantillons (dont 24 sérums sains et 239 sérums cliniques) à l'aide du Coffret IgM Kappa Optilite et d'un test alternatif disponible dans le commerce. L'analyse de régression de Passing et Bablok a généré les résultats suivants :

$$y = 0,93x + 0,01 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{Optilite} ; x = \text{analyseur de prédicat})$$

coefficient de corrélation $r = 0,986$ (calculé par régression linéaire)

Une étude comparative a été réalisée en analysant 55 sérums appariés ainsi que des échantillons de plasma sur lithium hépariné à l'aide du coffret IgM Kappa Optilite. L'analyse de régression de Passing et Bablok a généré les résultats suivants :

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

coefficient de corrélation $r = 0,998$ (calculé par régression linéaire)

Une étude comparative a été réalisée en analysant 55 sérums appariés ainsi que des échantillons de plasma EDTA à l'aide du coffret IgM Kappa Optilite. L'analyse de régression de Passing et Bablok a généré les résultats suivants :

$$y = 0,96x + 0,01 \text{ (g/L)} \quad (y = \text{plasma EDTA} ; x = \text{sérum})$$

coefficient de corrélation $r = 0,989$ (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, 0,020 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 Quantitation* (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 quantitatives : 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 0,2 à 5,0 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 de l'Intralipid (1 500 mg/dL), des triglycérides (1 000 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.

12.6 Excès d'antigène

Aucun excès d'antigène n'a été observé jusqu'à un taux de 9,6 fois le point haut de la courbe de calibration à la dilution d'échantillon standard 1+9. Cela équivaut à 48,00 g/L.

13 BIBLIOGRAPHIE

- 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.
- Kyle, R.A. & Rajkumar, S.V. (2003a) Monoclonal gammopathies of undetermined significance: a review. *Immunological Reviews*, 194, 112-139.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 2002.
- 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".