



Coffret IgA1 Optilite®

Pour un usage en diagnostic *in vitro*

Référence produit : NK087.OPT

Produits fabriqués par:

The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.bindingsite.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@bindingsite.fr

Optilite et SPAPLUS sont des marques enregistrées de The Binding Site Group Limited (Birmingham, RU) dans certains pays.



1 INDICATIONS

Ce coffret est destiné au dosage quantitatif des sous-classes 1 d'IgA humaines (IgA1) dans le sérum, le plasma héparine lithium ou le plasma EDTA sur en utilisant le turbidimètre Optilite de la société Binding Site. La mesure de ces immunoglobulines apporte une aide dans le diagnostic d'un métabolisme abnormal des protéines et des problèmes de l'organisme à résister aux agents infectieux. Ce test doit être utilisé en conjonction avec d'autres résultats de laboratoire et les informations cliniques.

2 RESUME ET EXPLICATIONS

Deux sous-classes d'IgA ont été identifiées chez l'homme : l'IgA1 qui représente 80 à 90% des IgA du sérum et l'IgA2 qui est la principale sous-classe des sécrétions telles que le lait. Les deux sous-classes semblent être régulées indépendamment. Les sites antigéniques des sous-classes d'IgA sont responsables des réactions anaphylactiques lors de transfusion. Ces réactions sont observées chez des patients totalement déficients en IgA1 ou en IgA2. Après des transfusions répétées, ces patients produisent des anticorps contre ces antigènes. Les sous-classes d'IgA sont très importantes au cours de la réponse à certains microorganismes pathogènes comme *Haemophilus influenzae*, qui sont capables d'un clivage enzymatique de l'IgA1 induisant une inactivation partielle de cette sous-classe. Des infections récurrentes sino-pulmonaires semblent être corrélées à une déficience en IgA2 qui offre une résistance à ces organismes (réfs 1, 2 et 3).

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%, benzamidine à 0,01%, acide éthylenediamine-tétracétique (EDTA) à 1 mM et BSA 0,5%.
- 4.2 **Calibrateur et Contrôles:** Pools de sérums humains, fournis 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%. 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 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 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 CONGÉLER. 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 doivent être obtenus par ponction veineuse et, dans le cas du plasma, séparé dès que possible. Le sang doit être laissé à coaguler et le sérum séparé dès que possible pour éviter l'hémolyse. Les sérums/plasmas peuvent être conservés à 2-8 °C jusqu'à 48 heures, sinon aliquoter et congeler non dilué à -20 °C ou moins. Les cycles de congélation/décongélation répétées doivent être évités. Les sérums/plasmas avec contamination microbienne, hémolysés et les échantillons contenant des particules lipémiques ne doivent pas être utilisés. Centrifuger les échantillons contenant un précipité avant le test. 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 4).

8 METHODOLOGIE

8.1 Matériel fourni

- 8.1.1 1 x 50 Tests Optilite IgA1 Reagent (Réactif IgA1 Optilite)
8.1.2 1 x 1,7mL Optilite IgA1 Calibrator (calibrateur IgA1 Optilite)
8.1.3 1 x 1,4mL Optilite IgA1 High Control (contrôle haut IgA1 Optilite)
8.1.4 1 x 1,4mL Optilite IgA1 Low Control (contrôle bas IgA1 Optilite)

8.2 Matériel requis mais non fourni

- 8.2.1 Équipement 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 opérateur Optilite, Référence fiche technique INST700.OPT
8.2.4 Diluant 1 Optilite, Référence produit IK709
8.2.5 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 opérateur Optilite.

- 8.4.1 Les paramètres de ce test sont fournis sur les codes à barres du certificat de contrôle de qualité (QCcert087.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 (mg/L)
1+0	35 – 600
1+9	350 – 6000

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 opérateur 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 (QCcert087.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 ±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

- 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'IgA1. 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 Un excès d'antigène potentiel ne peut pas être complètement écarté; dans de rares cas des échantillons avec une IgA1 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.

Gamme de sérum adultes

Cet intervalle de référence a été obtenu en mesurant la concentration en IgA1 de séums issus de donneurs de sang adultes et sains britanniques en utilisant l'automate SPAPLUS® de Binding Site. Il a été calculé en utilisant des statistiques non-paramétriques et représente 95% de la population centrale.

	Nombre (n)	Moyenne (mg/L)	Médiane (mg/L)	Gamme 95 percentiles (mg/L)
IgA1	120	1865,9	1751,79	760,81 – 3282,03

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 1 lot de réactif sur 3 automates.

Résumé de l'étude de précision									
	Moyenne (mg/L)	Intra-essai		Inter-essais		Inter-jours		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Niveau 1	5521,02	65,93	1,2	89,61	1,6	129,67	2,3	170,86	3,1
Niveau 2	3339,05	40,91	1,2	64,73	1,9	74,42	2,2	106,78	3,2
Niveau 3	979,49	14,11	1,4	29,00	3,0	11,15	1,1	34,13	3,5
Niveau 4	515,58	9,07	1,8	20,60	4,0	11,77	2,3	25,39	4,9
Niveau 5*	491,87	4,78	1,0	5,06	1,0	9,63	2,0	11,88	2,4
Niveau 6	489,24	10,28	2,1	22,30	4,6	5,85	1,2	25,25	5,2

* réalisé à la dilution échantillon 1+0

12.2 Comparaison

Une étude de comparaison a été réalisée en analysant 123 échantillons (96 normaux et 27 pathologique) en utilisant le coffret IgA1 Optilite et un autre test commercialement disponible. L'analyse de régression Passing Bablok a générée les résultats suivants :

$$y = 0,93x + 16,42 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{automate prédicat})$$

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

Une étude comparative a été réalisée en analysant 50 paires d'échantillon de sérum et plasma EDTA en utilisant le coffret IgA1 Optilite. L'analyse de régression de Passing Bablok a générée les résultats suivant:

$$y = 0,99x - 36,57 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{EDTA plasma}; x = \text{sérum})$$

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

Une étude comparative a été réalisée en analysant 50 paires d'échantillon de sérum et plasma Héparine Lithium en utilisant le coffret IgA1 Optilite. L'analyse de régression de Passing Bablok a générée les résultats suivant:

$$y = 1,00x - 28,52 \text{ (mg/L)} \quad (y = \text{plasma héparine lithium}; x = \text{sérum})$$

Coefficient de corrélation $r = 0,997$ (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, 35,0 mg/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 de sérum dilué en série sur la gamme allant de 209,57 – 6699,00 mg/L avec une déviation de linéarité <à 10%.

12.5 Interférence

Une étude a été effectuée en suivant le guide CLSI EP7-A2: *Interference Testing in Clinical Chemistry*. Un échantillon de sérum normal, un échantillon de sérum à proximité du point de décision médical et un échantillon de sérum abnormal ont été testés. Aucune interférence significative n'a été observée lors d'un essai avec la bilirubine (200 mg/L), des intra lipides (500mg/dL), des triglycérides (500 mg/dL) ou de l'hémoglobine (5g/L).

Aucune interférence significative avec les médicaments communément utilisés n'a été détectée. Pour plus d'informations, veuillez consulter la littérature (réf. 5).

12.6 Excès d'antigène

Aucun excès d'antigène n'a été observé jusqu'à un niveau équivalent à 4.8 fois la valeur du point haut de la courbe de calibration à la dilution standard échantillon 1+9, soit 29g/L. Dans des cas rares, un excès d'antigène peut apparaître en dessous de ce niveau – voir section 10.4.

13 BIBLIOGRAPHIE

- Protein Reference Unit Handbook of Clinical Immunochemistry (1990) Ed. A. Milford Ward, Publ. PRU Publications, Sheffield, 133-134.
- Mestecky, J. et al (1989). Comparative studies of the biological properties of human IgA subclasses. *Proteins of the Biol. Fluids* 36, 179-182.
- Conley, M.E. et al (1983). Serum levels of IgA1 and IgA2 in children and in patients with IgA deficiency. *Mol. Immunol.* 20, 977-981.
- 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 (2000). Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5th ed. AAC Press.