

05109442 190

100 testů

• Vyznačuje analyzátoři, na kterých může být souprava použita

Elecsys 2010	MODULAR ANALYTICS E170	cobas e 411	cobas e 601
•	•	•	•

Česky**Použití**

Imunostanovení pro in vitro kvantitativní stanovení Interleukinu-6 (IL-6) v lidském séru a plazmě. Stanovení Elecsys IL-6 lze použít jako indikátor akutního zánětu při léčbě těžce nemocných pacientů.

Elektrochemiluminiscenční imunostanovení „ECLIA“ je určeno pro použití na imunochemických analyzátořích Elecsys a **cobas e**.

Souhrn

Interleukin-6 (IL-6) je pleiotropní cytokin se širokým spektrem funkcí. Nejdříve byl popsán jako interferon- β 2, růstový faktor plazmocytů a hepatocyty stimulující faktor. Později byl popsán jako lidský, B-buňky stimulující faktor 2 (BSF2). V roce 1988 byl navržen název IL-6, jelikož další studie ukázaly, že protein vykazuje aktivity nejen v B-buňkách, ale rovněž v T-buňkách, krevetvorných kmenových buňkách, hepatocytech a mozkových buňkách.¹ IL-6 je tvořen z jednoho genu kódujícího 212 aminokyselin, který je rozštěpen na N-konci polypeptidu, přičemž vytváří peptid ze 184 aminokyselin s molekulovou hmotností mezi 22-27 kDa.² V roce 1989 bylo oznámeno, že byly detekovány rovněž imunoreaktivní komplexy v rozmezí 60-70 kDa v lidských tělních tekutinách u pacientů s akutní bakteriální infekcí.³ Produkce IL-6 je náhle vyvolána při akutních zánětlivých reakcích, spojených se zraněním, úrazem, stresem, infekcí, klinickou smrtí, neoplazií a dalšími vážnými stavy.²

Koncentrace IL-6 u pacientů s traumatem mohou předpovědět pozdější komplikace při následných chirurgických výkonech nebo indikovat jiné zranění či komplikace.^{4,5}

Následná měření IL-6 v séru nebo plazmě pacientů přijatých na JIP (jednotku intenzivní péče) ukázala, že jsou užitečná při hodnocení závažnosti SIRS (syndrom systémové zánětové odpovědi organismu), sepse a septického šoku a při předpovědi klinických výsledků u těchto pacientů.^{6,7,8} IL-6 je rovněž užitečný jako včasný varovný marker pro detekci neonatální sepse.^{9,10,11,12} IL-6 hraje roli i u chronických zánětů, např. revmatoidní artritidy (RA).^{13,14}

Princip testu

Sendvičový princip. Celková doba stanovení: 18 minut.

- 1. inkubace: 30 μ L vzorku je inkubováno s biotinylovanou monoklonální protilátkou proti IL-6.
- 2. inkubace: Po přidání monoklonální protilátky proti IL-6 značené rutheniovým komplexem^a a mikročastic potažených streptavidinem, tvoří protilátka s antigeny vzorku sendvičový komplex.
- Reakční směs je nasáta do měřicí cely, kde jsou mikročastice zachyceny magnetickým polem na povrchu elektrody. Nenavázané složky jsou odstraněny roztokem ProCell. Přivedené napětí na elektrodě vyvolá chemiluminiscenční emisi fotonů, která je změřena fotonásobičem.
- Výsledky jsou vyhodnoceny z kalibrační křivky, která je specificky vytvořena pro přístroj 2-bodovou kalibrací a master křivky, dodávané v čárovém kódu reagentie.

a) $\text{Tris}(2,2\text{-bipyridyl})\text{ruthenium(II)-komplex } (\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+})$

Reagentie - pracovní roztoky

- M Mikročastice potažené streptavidinem (přehledné víčko), 1 nádobka, 6,5 mL:
Streptavidinem potažené mikročastice, 0,72 mg/mL; konzervans.
- R1 Anti-IL-6-biotin (šedé víčko), 1 nádobka, 9 mL:
Biotinylovaná monoklonální protilátka proti IL-6 (myši) 0,9 μ g/mL; fosfátový pufr 95 mmol/L, pH 7,3; konzervans.
- R2 Anti-IL-6-Ru(bpy)₃²⁺ (černé víčko), 1 nádobka, 9 mL:
Monoklonální protilátka proti IL-6 (myši), značená rutheniovým komplexem 1,5 μ g/mL; fosfátový pufr 95 mmol/L, pH 7,3; konzervans.

Bezpečnostní opatření a varování

Pro diagnostické použití in vitro.

Dodržujte běžná bezpečnostní opatření, nutná pro nakládání se všemi reagentiemi.

Likvidace všech odpadních materiálů musí probíhat v souladu s místními předpisy.

Bezpečnostní listy jsou dostupné pro odborné uživatele na vyžádání.

Zabraňte vytvoření pěny u všech reagentií a typů vzorků

(vzorky, kalibrátory a kontroly).

Zacházení s reagentiemi

Reagentie v soupravě jsou sestaveny tak, že tvoří komplet, připravený k použití a nemohou být odděleny.

Všechny informace, potřebné pro správnou činnost, jsou načteny z příslušného čárového kódu reagentie.

Uskladnění a stabilita

Skladujte při 2-8 °C.

Reagenční soupravu Elecsys IL-6 skladujte ve **vzpřímené** poloze, aby byla zabezpečena dostupnost všech mikročastic při automatickém míchání před použitím.

Stabilita:

neotevřené při 2-8 °C	do uvedeného data expirace
po otevření při 2-8 °C	12 týdnů
v analyzátořích	4 týdny

Odběr vzorků a příprava

Pouze níže uvedené vzorky byly testovány a jsou vhodné ke stanovení:

Sérum odebrané standardní odběrovou soupravou nebo se separačním gelem. Li-heparin, K₂- a K₃-EDTA plazma.

Kritérium: Sklon 0,9-1,1 + úsek na ose v rámci ± 2 x analytická senzitivita (LDL) + korelační koeficient > 0,95.

Stabilní 5 hodin při 20-25 °C, 1 den při 2-8 °C, 3 měsíce při -20 °C. Zamrazit jen jednou.

Uvedené druhy vzorků byly testovány s vybranými typy odběrových zkumavek, které byly komerčně dostupné v té době tzn., že do testu nebyly zařazeny všechny typy zkumavek všech výrobců. Systémy odběru vzorků různých výrobců mohou obsahovat různé materiály, které mohou mít v některých případech vliv na výsledky. Při zpracování vzorků v primárních zkumavkách (systémy odběru vzorků), dodržujte pokyny jejich výrobce.

Vzorky, obsahující precipitáty, centrifugujte před provedením testu.

Nepoužívejte teplem inaktivované vzorky. Nepoužívejte vzorky a kontroly stabilizované azidem.

Před měřením zajistěte, aby vzorky pacientů, kalibrátory a kontroly, měly pokojovou teplotu (20-25 °C).

Vzhledem k možnému odparu roztoků, kalibrátorů a kontrol v analyzátoři, zajistěte jejich zpracování do 2 hodin.

Dodávaný materiál

Reagentie jsou uvedeny v části "Reagentie - pracovní roztoky".

Potřebný materiál (ale nedodávaný se soupravou)

- Kat. č. 05109469190, IL-6 CalSet pro 4 x 2 mL
- Kat. č. 05109477190, PreciControl IL-6, pro 2 x 2 mL každého z PreciControl IL-6 1 a 2
- Kat. č. 03609987190, Diluent MultiAssay, 2 x 16 mL diluentu vzorků
- Celkové vybavení laboratoře
- Elecsys 2010, MODULAR ANALYTICS E170 nebo analyzátoři **cobas e**

Příslušenství pro analyzátoři Elecsys 2010 a **cobas e** 411:

- Kat. č. 11662988122, ProCell, 6 x 380 mL systémový pufr
- Kat. č. 11662970122, CleanCell, 6 x 380 mL čistící roztok pro měřicí celu
- Kat. č. 11930346122, Elecsys SysWash, 1 x 500 mL promývací přísada
- Kat. č. 11933159001, Adapter for SysClean
- Kat. č. 11706802001, Elecsys 2010 Assay Cup, 60 x 60 reakčních nádobek
- Kat. č. 11706799001, Elecsys 2010 Assay Tip, 30 x 120 pipetovacích špiček

Příslušenství pro analyzátoři MODULAR ANALYTICS E170 a **cobas e** 601:

- Kat. č. 04880340190, ProCell M, 2 x 2 L systémový pufr
- Kat. č. 04880293190, CleanCell M, 2 x 2 L čistící roztok pro měřicí celu



- Kat. č. 12135027190, CleanCell M, 1 x 2 L čistící roztok pro měřící celu (pro USA)
- Kat. č. 03023141001, PC/CC-Cups, 12 kališků pro přehřívání ProCell M a CleanCell M před použitím
- Kat. č. 03005712190, ProbeWash M, 12 x 70 mL čistícího roztoku pro finalizaci a mytí během změny reagensií
- Kat. č. 12102137001, AssayCups/AssayTips Combimagazine M, 48 palet x 84 reak. nádobek nebo pipet. špiček, odpadní vaky
- Kat. č. 03023150001, WasteLiner, odpadní vaky
- Kat. č. 03027651001, SysClean Adapter M

Příslušenství pro všechny analyzátoři:

- Kat. č. 11298500316, Elecsys SysClean, 5 x 100 mL systémový čistící roztok

Stanovení

Nejvhodnějšího provedení stanovení dosáhnete, budete-li dodržovat pokyny, uvedené v dokumentaci pro analyzátoři. Instrukce, specifické pro jednotlivé analyzátoři, vyhledejte v uživatelské příručce.

Promíchání mikročástic před použitím proběhne automaticky. Načtete specifické parametry pro test z čárového kódu reagensie. Ve výjimečných případech, kdy čárový kód nemůže být načten, zadejte 15-ti místnou sekvenci čísel.

Analyzátoři MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 a **cobas e**: Vytemperujte chlazené reagensie na přibližně 20 °C a umístěte je do reagenčního kotouče (20 °C) analyzátoři. Zabraňte vytvoření pěny. Systém **automaticky** reguluje teplotu reagensií a otevírá/zavírá nádobky.

Kalibrace

Návaznost: Tato metoda byla standardizována podle NIBSC (National Institute for Biological Standards and Control) 1st IS 89/548 Standard.

Každá reagenční souprava Elecsys IL-6 je opatřena štítkem s čárovým kódem, obsahujícím informace, potřebné pro kalibraci dané šarže reagensií. Předdefinovaná master křivka je uzpůsobena pro analyzátoři pomocí Elecsys IL-6 CalSet.

Frekvence kalibrace: Kalibrace musí být provedena jednou pro celou šarži reagensií novými reagensiemi (tj. ne více než 24 hodin od registrace reagenční soupravy v analyzátoři). Obnovení kalibrace je doporučeno:

Analyzátoři MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 a **cobas e**:

- po 1 měsíci (28 dní) při používání stejné šarže reagensií
- po 7 dnech (při používání stejné reagenční soupravy v analyzátoři)
- dle potřeby: např. výsledky kontroly kvality jsou mimo určené rozmezí

Kontrola kvality

Pro kontrolu kvality používejte Elecsys PreciControl IL-6 1 a 2.

Jiný vhodný kontrolní materiál může být rovněž použit.

Kontroly pro rozdílné koncentrační hladiny by měly být jednotlivě stanoveny nejméně jednou za 24 hodin při používání testu, alespoň jednou pro soupravu reagensií a po každé kalibraci. Kontrolní intervaly a meze by měly být uzpůsobeny pro každou laboratoř dle individuálních požadavků. Naměřené hodnoty by se měly pohybovat v požadovaných mezích.

Každá laboratoř by měla mít vypracovaný postup pro případ, že hodnoty kontrol překročí požadované meze.

Sledujte příslušná vládní nařízení a lokální směrnice kontroly kvality.

Výpočet

Analyzátoři automaticky počítá koncentraci analytu pro každý vzorek v pg/mL.

Omezení - interference

Stanovení není ovlivněno ikerem (bilirubin < 428 μmol/L nebo < 25 mg/dL), hemolýzou (Hb < 0,621 mmol/L nebo < 1,0 g/dL), lipémií (Intralipid < 1 500 mg/dL) a biotinem < 123 nmol/L nebo < 30 ng/mL.

Kritérium: Výťažnost v rozmezí ±15 % počáteční hodnoty.

U pacientů, kteří dostávají vysoké dávky biotinu (tj. > 5 mg/den), mohou být vzorky odebrány nejdříve za 8 hodin po podání poslední dávky biotinu.

Interference nebyla zaznamenána od revmatoidních faktorů do koncentrace 1 500 IU/mL.

Efekt nadbytku antigenu (hook efekt) nebyl zaznamenán pro IL-6 do koncentrace 200 000 pg/mL.

In vitro testy byly prováděny na 18 běžně užívaných a 13 speciálních lécích. Nebyla zjištěna žádná interference.

Ve vzácných případech je možné pozorovat interferenci způsobenou velmi vysokým titrem protilátek proti analyt-specifickým protilátkám (jako HAMA), streptavidinu nebo rutheniu. Tyto účinky jsou minimalizovány vhodným navržením testu.

Pro diagnostické účely je vždy nezbytné používat výsledky ve spojení s chorobopisem pacienta, klinickým vyšetřením a ostatními nálezy.

Rozsah měření

1,5-5 000 pg/mL (definováno spodním detekčním limitem a maximem master křivky). Hodnoty pod detekčním limitem jsou hlášeny jako < 1,5 pg/mL. Hodnoty nad rozsahem měření jsou vydány jako > 5 000 pg/mL (nebo do 50 000 pg/mL při 10-násobném ředění vzorku).

Ředění

Vzorky s koncentrací IL-6 vyšší než rozsah měření mohou být naředěny Elecsys Diluent MultiAssay. Doporučený poměr ředění je 1:10 (buď automaticky na analyzátoři MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 a **cobas e** nebo ručně). Koncentrace ředěného vzorku musí být > 50 pg/mL. Po ručním naředění výsledek vynásobte faktorem ředění. Po naředění analyzátoři software MODULAR ANALYTICS E170, Elecsys 2010 a **cobas e** automaticky počítá s ředěním při výpočtu koncentrace vzorku.

Očekávané hodnoty

V externí studii, použitím stanovení Elecsys IL-6 na vzorcích 817 zjevně zdravých jedinců, bylo zjištěno referenční rozmezí až 7 pg/mL (95. perc.). Každá laboratoř by si měla prověřit převoditelnost očekávaných hodnot na svou populaci pacientů a je-li to nutné, stanovit si vlastní referenční rozmezí.

Klinická výkonnost

Stanovení bylo provedeno na vzorcích od 281 pacientů JIP s potvrzenou infekcí nebo podezřením na infekci. Pacienti byli rozříděni do kategorií, založených na konsenzuálních kritériích ACCP/SCCM (American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine): SIRS, sepse, závažná sepe a septický šok.¹⁵ Hodnoty IL-6 pacientů se SIRS (n = 94) nebo sepsí (n = 65), závažnou sepsí (n = 60) nebo septickým šokem (n = 62) byly (3 evropská centra):

	IL-6 (pg/mL)					
	Medián	Průměr	Minimum	Maximum	N = 281	N
SIRS	62,1	150	≤ 1,5	2 062	94	159
Sepse	131	294	6,47	3 122	65	
Závažná sepe	346	1 827	15,2	39 121	60	122
Septický šok	659	8 835	8,55	171 257	62	

Specifické technické údaje

Údaje, typické pro analyzátoři, jsou uvedeny níže. Výsledky, získané v různých laboratořích, se mohou lišit.

Přesnost

Přesnost byla stanovena použitím reagensií Elecsys, vzorků a kontrol, podle protokolu (EP5-A2) CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute): 2 série denně v duplikátech, každá za 21 dní (n = 84). Byly získány následující výsledky:

Analyzátoři Elecsys 2010 a cobas e 411					
Vzorek	Průměr pg/mL	Reprodukovatelnost ^{b)}		Prostřední přesnost	
		SD pg/mL	VK %	SD pg/mL	VK %
Lidské sérum 1	17,3	1,03	6,0	1,46	8,5
Lidské sérum 2	117	2,90	2,5	3,71	3,2
Lidské sérum 3	891	22,8	2,6	25,5	2,9
PC ^{c)} IL-6 1	40,0	0,906	2,3	2,15	5,4
PC IL-6 2	244	4,19	1,7	7,65	3,1

b) Reprodukovatelnost = přesnost v sérii

c) PC = PreciControl



Assay Barcodes

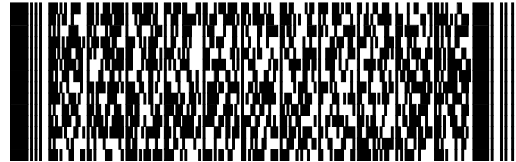
Roche/Hitachi MODULAR ANALYTICS E170

2009-06 - 17 - 19

A-CCP

ACN 202

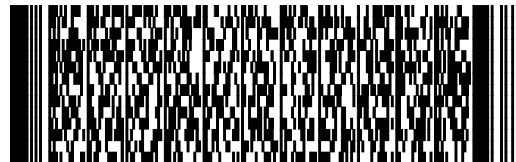
Version 1
2008-04



PCT

ACN 227

Version 2
2008-04



IL6

ACN 203

Version 2
2008-12

