

# IMMULITE®

## IL-8

For use on the IMMULITE®  
and IMMULITE® 1000 systems

**DPC®**

# IMMULITE®/IMMULITE® 1000 IL-8

## English

**Intended Use:** For *in vitro* diagnostic use with the IMMULITE and IMMULITE 1000 Analyzers — for the quantitative measurement of interleukin 8 (IL-8) in serum or EDTA plasma, as an aid in the study of inflammatory diseases.

Catalog Number: **LK8PZ** (50 tests),  
**LK8P1** (100 tests)

Test Code: **I8** Color: **Dark Pink**

### Summary and Explanation

Interleukin 8 (IL-8) is a non-glycosylated protein with a molecular weight of 8 kDa. One of its most important biochemical functions is to act as a chemoattractant for neutrophils. Due to this property IL-8 was previously called neutrophil activating protein (NAP-1),<sup>1</sup> neutrophil activating factor (NAF)<sup>2</sup> and monocyte-derived neutrophil chemotactic factor (MDNCF).<sup>3</sup>

Initially, IL-8 was purified from monocytes which are believed to be the major source for the protein.<sup>2,3,4,5</sup> But it was shown that many other cell types, such as endothelial cells,<sup>6</sup> epithelial cells,<sup>7</sup> hepatocytes,<sup>7</sup> fibroblasts<sup>8</sup> and chondrocytes, can also produce IL-8. The release of the protein by these cells can be initiated by a wide variety of stimuli including LPS, IL-1, TNF, viruses and urate crystals.<sup>9</sup>

IL-8 is a member of the superfamily of chemokines, small 8–10 kDa proteins, which are referred to as pro-inflammatory cytokines. Besides their biological function as chemoattractants, members of these proteins show a 20–50% homology based on their amino acid sequence and a conserved four-cysteine motif. Other proteins which belong to this group are GRO $\alpha$ , RANTES, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IP-10, ENA-78, etc.<sup>10</sup>

Due to its biological properties, IL-8 plays a crucial role in many inflammatory events. As such, elevated levels of IL-8 are reported in various diseases including psoriasis,<sup>11</sup> cystic fibrosis,<sup>12</sup> idiopathic pulmonary fibrosis,<sup>12</sup> pleural disease<sup>12</sup> and rheumatoid arthritis.<sup>13</sup>

### Principle of the Procedure

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-8 is a solid-phase, two-site chemiluminescent immunometric assay.

**Incubation Cycles:** 1 × 30 minutes.

### Specimen Collection

The use of an ultracentrifuge is recommended to clear lipemic samples.

Hemolyzed samples may indicate mistreatment of a specimen before receipt by the laboratory; hence the results should be interpreted with caution.

Centrifuging serum samples before a complete clot forms may result in the presence of fibrin. To prevent erroneous results due to the presence of fibrin, ensure that complete clot formation has taken place prior to centrifugation of samples. Some samples, particularly those from patients receiving anticoagulant therapy, may require increased clotting time.

Blood collection tubes from different manufacturers may yield differing values, depending on materials and additives, including gel or physical barriers, clot activators and/or anticoagulants. IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-8 has not been tested with all possible variations of tube types. Consult the section on Alternate Sample Types for details on tubes that have been tested.

**Volume Required:** 50  $\mu$ L serum or plasma. (Sample cup must contain at least 100  $\mu$ L more than the total volume required.) Avoid hemolysis; and separate the serum or plasma from the cells within two hours.<sup>15</sup>

**Storage:** 2 days at 2–8°C or for longer periods at –20°C.

### Warnings and Precautions

For *in vitro* diagnostic use.

**Reagents:** Store at 2–8°C. Dispose of in accordance with applicable laws.

Follow universal precautions, and handle all components as if capable of transmitting infectious agents. Source materials derived from human blood were

tested and found nonreactive for syphilis; for antibodies to HIV 1 and 2; for hepatitis B surface antigen; and for antibodies to hepatitis C.

Sodium azide, at concentrations less than 0.1 g/dL, has been added as a preservative. On disposal, flush with large volumes of water to prevent the buildup of potentially explosive metal azides in lead and copper plumbing.

**Chemiluminescent Substrate:** Avoid contamination and exposure to direct sunlight. (See insert.)

**Water:** Use distilled or deionized water.

## Materials Supplied

Components are a matched set. The barcode labels are needed for the assay.

### IL-8 Test Units (L8P1)

Each barcode-labeled unit contains one bead coated with a murine monoclonal anti-IL-8 antibody. Stable at 2–8°C until expiration date.

**LK8PZ:** 50 units. **LK8P1:** 100 units.

Allow the Test Unit bags to come to room temperature before opening. Open by cutting along the top edge, leaving the ziplock ridge intact. Reseal the bags to protect from moisture.

### IL-8 Reagent Wedge (L8P2)

With barcode. 7.5 mL alkaline phosphatase (bovine calf intestine) conjugated to a rabbit polyclonal anti-IL-8 antibody in buffer, with preservative. Store capped and refrigerated: stable at 2–8°C until expiration date. Recommended usage is within 30 days after opening when stored as indicated.

**LK8PZ:** 1 wedge. **LK8P1:** 1 wedge.

### IL-8 Adjustors (L8PL, L8PH)

Two vials (Low and High) of lyophilized IL-8 in a nonhuman serum matrix, with preservative. Reconstitute each vial with **3.0 mL** distilled or deionized water. Mix by gentle, intermittent swirling. Aliquot and freeze any unused material at –20°C within 3 hours of reconstitution. Stable at –20°C for 6 months after reconstitution.

**LK8PZ:** 1 set. **LK8P1:** 1 set.

## Kit Components Supplied Separately

### IL-8 Sample Diluent (L8PZ)

For the manual dilution of patient samples. One vial (25 mL) of an IL-8 and IL-10-free nonhuman serum matrix, with preservative. Stable at 2–8°C for 14 days after opening, or for 6 months (aliquotted) at –20°C.

**LSUBX:** Chemiluminescent Substrate

**LPWS2:** Probe Wash Module

**LKPM :** Probe Cleaning Kit

**LCHx-y:** Sample Cup Holders (barcoded)

**LSCP:** Sample Cups (disposable)

**LSCC:** Sample Cup Caps (optional)

**LILCM:** IMMULITE Cytokine Control Module (Bi-level, human serum-based).

Also Required

Sample transfer pipets, distilled or deionized water, controls.

## Assay Procedure

Note that for optimal performance, it is important to perform all routine maintenance procedures as defined in the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual.

See the IMMULITE or IMMULITE 1000 Operator's Manual for: preparation, setup, dilutions, adjustment, assay and quality control procedures.

Visually inspect each Test Unit for the presence of a bead before loading it onto the system.

**Recommended Adjustment Interval:** 2 weeks.

**Quality Control Samples:** Use controls or sample pools with at least two levels (low and high) of IL-8.

## Expected Values

Samples from a total of 50 healthy individuals were assayed by the IMMULITE IL-8 procedure. The absolute range of these samples was from nondetectable to 62 pg/mL.

Consider these limits as *guidelines* only. Each laboratory should establish its own reference ranges.

## Limitation

Heterophilic antibodies in human serum can react with the immunoglobulins included in the assay components causing interference with *in vitro* immunoassays. [See Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Samples from patients routinely exposed to animals or animal serum products can demonstrate this type of interference potentially causing an anomalous result. These reagents have been formulated to minimize the risk of interference; however, potential interactions between rare sera and test components can occur. For diagnostic purposes, the results obtained from this assay should always be used in combination with the clinical examination, patient medical history, and other findings.

## Performance Data

See Tables and Graphs for data *representative* of the assay's performance. Results are expressed in pg/mL. (Unless otherwise noted, all were generated on serum samples collected in tubes without anticoagulants, gel barriers or clot-promoting additives.)

**Calibration Range:** Up to 7,500 pg/mL (NIBSC 89/520)

**Analytical Sensitivity:** 2 pg/mL

**Intraassay Precision (Within-Run):** Statistics were calculated for samples from the results of 20 replicates in a single run. (See "Intraassay Precision" table.)

**Interassay Precision (Run-to-Run):** Statistics were calculated for samples assayed in 20 different runs. (See "Interassay Precision" table.)

**Linearity:** Samples were assayed under various dilutions. (See "Linearity" table for representative data.)

**Recovery:** Samples spiked 1 to 19 with three IL-8 solutions (158, 386 and 8,000 pg/mL) were assayed. (See "Recovery" table for representative data.)

**Specificity:** The antibody is highly specific for interleukin 8. (See "Specificity" table.)

**Alternate Sample Type:** Samples ( $n = 5$ ) were collected into plain, heparinized and EDTA vacutainer tubes.

(EDTA) = 0.97 (Serum) + 13 pg/mL  
 $r = 1.00$

(Heparin) = 0.96 (Serum) – 17 pg/mL  
 $r = 1.00$

Means:  
3,403 pg/mL (Serum)  
3,339 pg/mL (EDTA)  
3,256 pg/mL (Heparin)

**Bilirubin:** Presence of bilirubin in concentrations up to 200 mg/L has no effect on results, within the precision of the assay.

**Method Comparison:** The assay was compared to the Milenia IL-8 assay on 32 patient samples. (Concentration range: approximately 19 to 6,700 pg/mL. See graph 1.) By linear regression:

(IML) = 1.04 (Milenia) – 62 pg/mL  
 $r = 0.982$

Means:  
2,086 pg/mL (IMMULITE)  
2,070 pg/mL (Milenia)

The IMMULITE IL-8 procedure (mono/poly, LK8P) was also compared to the IMMULITE IL-8 (mono/mono, LKL8) assay on 30 patient samples. (Concentration range: approximately 11 to 7,258 pg/mL. See graph 2.) By linear regression:

(LK8P) = 0.92 (LKL8) – 8.2 pg/mL  
 $r = 0.996$

Means:  
1,756 pg/mL (LK8P)  
1,908 pg/mL (LKL8)

## References

- 1) Larsen CG, et al. The neutrophil-activating protein (NAP-1) is also chemotactic for T lymphocytes. Science 1989;243:1464–6. 2) Walz AP, et al. Purification and amino acid sequencing of NAF, a novel neutrophil-activating factor produced by monocytes. Biochem Biophys Res Commun 1987;149:755–61. 3) Yoshimura TK, et al. Purification of a monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similarity to other host defense cytokines. Proc Natl Acad Sci USA 84 1987;9233–7. 4) Peveri PA, et al. A novel neutrophil-activating factor produced by human mononuclear phagocytes. J Exp Med 1988;167:1547–59. 5) Damme van JJ, et al. A novel NH2-terminal sequence-characterized human monokine possessing neutrophil chemotactic, skin-reactive and granulocytosis-promoting activity. J Exp Med 1988;167:1364–76. 6) Schroeder JM and Christophers E. Secretion of novel and homologous neutrophil-activating peptides by LPS-stimulated human

endothelial cells. *J Immunol* 1989;142:244–51. 7) Kunkel SL, et al. Regulation of tumor necrosis factor- $\alpha$  and neutrophil activating protein-1 gene expression: potential role of cytokine directed cell communication during multiple organ injury. In: *Respiratory Distress Syndrome: Molecular to Man*, 1989. 8) Strieter RM, et al. Monokine-induced neutrophil chemotactic factor gene expression in human fibroblasts. *J Biol Chem* 1989;264:10621–6. 9) Baggiolini M, et al. Neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J Clin Invest* 1989;84:1045–7. 10) Sager R, et al. In: *J Westwick, et al, editors. Chemotactic Cytokines*. New York: Plenum Press, 1991:73. 11) Sticherling M, et al. Localization of neutrophil-activating peptide-1/interleukin 8-immunoreactivity in normal and psoriatic skin. *J Invest Dermatol* 1991;96:26–30. 12) Strieter RM, et al. The immunopathology of chemotactic cytokines: the role of interleukin-8 and monocyte chemoattractant protein-1. *J Lab Clin Med* 1994;123:183–97. 13) Peichl P, et al. Presence of NAP-1/IL-8 in synovial fluids indicates a possible pathogenic role in rheumatoid arthritis. *Scand J Immunol* 1991;34:333–9. 14) National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture; approved standard*. 4th ed. NCCLS Document H3-A4, Wayne, PA: NCCLS, 1998. 15) Data on file.

### Technical Assistance

Available outside the United States only. For technical assistance, contact your National Distributor.

Manufactured by EURO/DPC Ltd. under a Quality System registered to ISO 13485:2003.

## Tables and Graphs

### Intraassay Precision (pg/mL)

	Mean <sup>1</sup>	SD <sup>2</sup>	CV <sup>3</sup>
1	89	3.2	3.6%
2	1,067	41	3.8%
3	4,187	156	3.7%

### Interassay Precision (pg/mL)

	Mean <sup>1</sup>	SD <sup>2</sup>	CV <sup>3</sup>
1	40	2.6	6.5%
2	120	8.9	7.4%
3	465	30	6.5%
4	1,018	53	5.2%
5	5,177	342	6.6%

### Linearity (pg/mL)

	Dilution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	%O/E <sup>4</sup>
1	8 in 8 <sup>5</sup>	67	—	—
	4 in 8	34	34	100%
	2 in 8	19	17	112%
	1 in 8	10.5	8.4	125%
2	8 in 8	174	—	—
	4 in 8	84	87	97%
	2 in 8	38	44	86%
	1 in 8	19	22	86%
3	8 in 8	363	—	—
	4 in 8	188	182	103%
	2 in 8	91	91	100%
	1 in 8	45	45	100%

### Recovery (pg/mL)

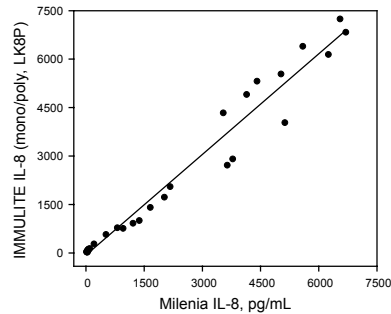
	Spiking Solution <sup>1</sup>	Observed <sup>2</sup>	Expected <sup>3</sup>	%O/E <sup>4</sup>
1	—	64	—	—
	A	68	69	99%
	B	77	80	96%
	C	439	461	95%
2	—	147	—	—
	A	146	148	99%
	B	166	159	104%
	C	545	540	101%
3	—	290	—	—
	A	286	283	101%
	B	285	295	97%
	C	666	676	99%

## Specificity

Compound <sup>1</sup>	pg/mL Added <sup>2</sup>	Apparent pg/mL <sup>3</sup>	% Cross-reactivity <sup>4</sup>
IL-1 $\beta$	10,000	ND	ND
IL-2	10,000	ND	ND
IL2R	10,000	ND	ND
IL-4	10,000	ND	ND
IL-6	10,000	ND	ND
IFN	10,000	ND	ND
TNF $\alpha$	10,000	ND	ND
Pure Horse Serum	—	ND	ND

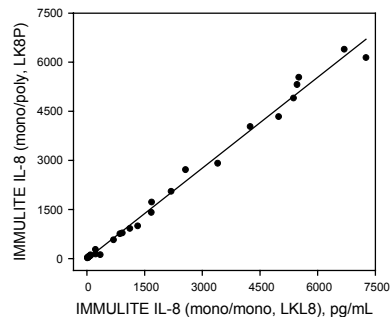
ND: not detectable.<sup>5</sup>

## Method Comparison 1



(IML) = 1.04 (Milenia) – 62 pg/mL  
r = 0.982

## Method Comparison 2



(LK8P) = 0.92 (LKL8) – 8.2 pg/mL  
r = 0.996

**Deutsch. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Mittelwert, <sup>2</sup>S (Standardabweichung), <sup>3</sup>CV (Variationskoeffizient). **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Mittelwert, <sup>2</sup>S (Standardabweichung), <sup>3</sup>CV (Variationskoeffizient). **Linearity:** <sup>1</sup>Verdünnung, <sup>2</sup>Beobachtet (B), <sup>3</sup>Erwartet (E), <sup>4</sup>% B/E, <sup>5</sup>8 in 8. **Recovery:** <sup>1</sup>Probe, <sup>2</sup>Beobachtet (B), <sup>3</sup>Erwartet (E), <sup>4</sup>% B/E. **Specificity:** <sup>1</sup>Verbindung, <sup>2</sup>zugewetzte Menge, <sup>3</sup>Gemessene Konzentration, <sup>4</sup>% Kreuzreaktivität, <sup>5</sup>NN: Nicht nachweisbar. **Method Comparison:** IL-8: Interleukin-8.

**Español. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Media, <sup>2</sup>DS, <sup>3</sup>CV. **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Media, <sup>2</sup>DS, <sup>3</sup>CV. **Linearity:** <sup>1</sup>Dilución, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, <sup>5</sup>8 en 8. **Recovery:** <sup>1</sup>Solución, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E. **Specificity:** <sup>1</sup>Compuesto, <sup>2</sup>Cantidad añadida, <sup>3</sup>Concentración aparente, <sup>4</sup>% Reacción cruzada, <sup>5</sup>ND: no detectable. **Method Comparison:** IL-8: IL-8.

**Français. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Moyenne, <sup>2</sup>SD, <sup>3</sup>CV. **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Moyenne, <sup>2</sup>SD, <sup>3</sup>CV. **Linearity:** <sup>1</sup>Dilution, <sup>2</sup>Observé (O), <sup>3</sup>Attendu (A), <sup>4</sup>%O/A, <sup>5</sup>8 dans 8. **Recovery:** <sup>1</sup>Solution, <sup>2</sup>Observé (O), <sup>3</sup>Attendu (A), <sup>4</sup>%O/A. **Specificity:** <sup>1</sup>Composé, <sup>2</sup>ajouté, <sup>3</sup>Concentration apparente, <sup>4</sup>Réaction croisée%, <sup>5</sup>ND: non détectable. **Method Comparison:** IL-8: IL8.

**Italiano. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Media, <sup>2</sup>SD (Deviazione Standard), <sup>3</sup>CV (Coefficiente di Variazione). **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Media, <sup>2</sup>SD (Deviazione Standard), <sup>3</sup>CV (Coefficiente di Variazione). **Linearity:** <sup>1</sup>Diluizione, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A, <sup>5</sup>8 in 8. **Recovery:** <sup>1</sup>Soluzione, <sup>2</sup>Osservato (O), <sup>3</sup>Atteso (A), <sup>4</sup>%O/A. **Specificity:** <sup>1</sup>Composto, <sup>2</sup>quantità aggiunta, <sup>3</sup>Concentrazione apparente, <sup>4</sup>Percentuale di Crossreattività, <sup>5</sup>ND: non determinabile. **Method Comparison:** IL-8: IL-8.

**Português. Intraassay Precision:** <sup>1</sup>Média, <sup>2</sup>Desvio padrão, <sup>3</sup>Coefficiente de variação. **Interassay Precision:** <sup>1</sup>Média, <sup>2</sup>Desvio padrão, <sup>3</sup>Coefficiente de variação. **Linearity:** <sup>1</sup>Diluição, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E, <sup>5</sup>8 em 8. **Recovery:** <sup>1</sup>Solução, <sup>2</sup>Observado (O), <sup>3</sup>Esperado (E), <sup>4</sup>%O/E. **Specificity:** <sup>1</sup>Composto, <sup>2</sup>Quantidade adicionada, <sup>3</sup>Apparent Concentration, <sup>4</sup>Percentagem de reação cruzada, <sup>5</sup>ND: não detectável. **Method Comparison:** IL-8: Interleuquina 8.

## Deutsch

### Interleukin-8 IMMULITE

**Anwendung:** Zur *in vitro*-Diagnostik unter Verwendung der IMMULITE und IMMULITE 1000 Systeme – zur quantitativen Messung von Interleukin-8 in Serum oder EDTA-Plasma als

Hilfestellung für die Untersuchung von entzündlichen Krankheiten.

Artikelnummern: **LK8PZ** (50 Tests),  
**LK8P1** (100 Tests)

Testcode: **I8** Farbe: **dunkelrosa**

### Klinische Relevanz

Interleukin-8 ist ein nicht glykosiliertes Protein mit einem Molekulargewicht von 8 kDa. Eine seiner wichtigsten biochemischen Funktionen ist die Wirkung als Chemoattractant für Neutrophile. Auf Grund dieser Eigenschaft wurde das Interleukin 8 anfangs als Neutrophile aktivierendes Protein (NAP-1),<sup>1</sup> Neutrophile aktivierender Faktor (NAF) und als Monozyten-produzierter neutrophiler chemotaktischer Faktor (MDNCF) bezeichnet.<sup>3</sup>

Ursprünglich wurde das IL-8 aus Monozyten aufgereinigt. Es wurde deshalb angenommen, dass dies die Hauptquelle für dieses Protein sei.<sup>2,3,4,5</sup> Im weiteren zeigte sich, dass viele andere Zelltypen wie z. B. Endothelzellen,<sup>6</sup> Epithelzellen,<sup>7</sup> Hepatozyten,<sup>7</sup> Fibroblasten<sup>8</sup> und Chondrozyten ebenfalls IL-8 produzieren können. Die Freisetzung des Proteins durch die oben genannten Zellen kann durch ein breites Spektrum von Stimuli wie z. B.: LPS, IL-1, TNF, Viren und Harnstoffkristallen ausgelöst werden.<sup>9</sup>

IL-8 ist ein Mitglied der Chemokine Superfamilie, kleine 8-10 kDa Proteine, die den proinflammatorischen Zytokinen zugeordnet werden. Neben ihrer biologischen Funktion als Chemoattractants zeigen die Mitglieder dieser Proteingruppe eine 20–50%ige Homologie in ihrer Aminosäuresequenz, sowie eine hochkonservierte Struktureinheit aus 4 Cysteinen. Andere Proteine, die zu dieser Gruppe gehören sind GRO-alpha, RANTES, MCP-1, MIP-1α, MIP-1β, IP-10, ENA-78, etc.<sup>10</sup>

Auf Grund seiner biologischen Eigenschaften spielt das IL-8 eine entscheidende Rolle in vielen entzündlichen Prozessen. Dies führt bei einer Reihe verschiedenster Erkrankungen wie z. B. Psoriasis,<sup>11</sup> zystischer Fibrose,<sup>12</sup> idiopathischer Lungenfibrose,<sup>12</sup> Pleuraerkrankungen,<sup>12</sup> rheumatoider Arthritis<sup>13</sup> und septischen

Prozessen zu erhöhten IL-8 Konzentrationen.

### Methodik

IMMULITE/IMMULITE 1000 Interleukin-8 ist ein Festphasen, Zwei-phasen Chemilumineszenz immunometrischer Assay.

**Inkubationszyklen:** 1 × 30 Minuten

### Probengewinnung

Der Einsatz einer Ultrazentrifuge wird zur Klärung von lipämischen Proben empfohlen.

Bei hämolysierten Proben besteht die Möglichkeit einer unsachgemäßen Handhabung vor Eintreffen im Labor, daher sind die Ergebnisse zurückhaltend zu interpretieren.

Die Zentrifugation der Serumproben vor dem völligen Abschluss der Gerinnung kann zu Fibringerinnseln führen. Um fehlerhaften Analysenergebnissen infolge von Gerinnseln vorzubeugen, ist sicherzustellen, dass die Gerinnung vor der Zentrifugation der Proben vollständig abgeschlossen ist. Insbesondere Proben von Patienten unter Antikoagulantien-therapie können eine verlängerte Gerinnungszeit aufweisen.

Blutentnahmeröhrchen von verschiedenen Herstellern können differierende Werte verursachen. Dies hängt von den verwendeten Materialien und Additiven (Gel oder physische Trennbarrieren, Gerinnungsaktivatoren und /oder Antikoagulantien) ab. IMMULITE / IMMULITE 1000 Interleukin-8 sind nicht mit allen möglichen Röhrchenvariationen ausgetestet worden. Details der getesteten Röhrchenarten sind dem Kapitel "Alternative Probenarten" zu entnehmen.

**Erforderliche Menge:** 50 µl Serum oder Plasma.

(Inhalt des Probenträgers muss mindestens 100 µl über der erforderlichen Gesamtmenge liegen.) Keine hämolysierten Proben verwenden. Das zu untersuchende Serum oder Plasma muss innerhalb von 2 Stunden von den Blutzellen abgetrennt werden.<sup>15</sup>

**Lagerung:** 2 Tage bei 2–8°C oder zur längeren Lagerung bei –20°C.

## Hinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Zur **In-vitro**-Diagnostik.

**Reagenzien:** Bei 2–8°C lagern. Unter Einhaltung der geltenden gesetzlichen Vorschriften entsorgen.

Die generell geltenden Vorsichtsmaßnahmen sind einzuhalten und alle Komponenten als potenziell infektiös zu behandeln. Alle aus menschlichem Blut gewonnenen Materialien wurden auf Syphilis, Antikörper gegen HIV-1 und HIV-2, Hepatitis-B-Oberflächenantigen und Hepatitis-C-Antikörper untersucht und negativ befundet.

Bestimmten Komponenten wurde Natriumazid (<0,1 g/dl) hinzugefügt. Um die Bildung von explosiven Metallaziden in Blei- und Kupferrohren zu vermeiden, sollten die Reagenzien nur zusammen mit großen Wassermengen in die Kanalisation gespült werden.

**Chemilumineszenz-Substrat:** Kontamination und direkte Sonneneinstrahlung vermeiden. Siehe Packungsbeilage.

**Wasser:** Destilliertes oder deionisiertes Wasser verwenden.

### Im Lieferumfang enthalten

Die Bestandteile der Testpackung sind aufeinander abgestimmt. Die Barcode-Aufkleber auf der Innenverpackung werden zur Testdurchführung gebraucht.

#### IL-8- Testeinheiten (L8P1)

Jede mit Barcode-Etikette versehene Einheit enthält eine mit monoklonalem anti-IL-8 Antikörper beschichtete Kugel. Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar.  
**LK8PZ:** 50 Testeinheiten  
**LK8P1:** 100 Testeinheiten

Verpackte Testeinheiten vor dem Öffnen stehen lassen, bis sie Zimmertemperatur erreicht haben. Oben entlang der Kante aufschneiden, ohne den Plastikverschluss zu beschädigen. Verpackungen wieder dicht verschließen, damit der Inhalt trocken bleibt.

#### IL-8- Reagenzbehälter (L8P2)

Mit Barcode. 7,5 ml mit alkalischer Phosphatase (Rinderkalbsdarm)

konjugiertes polyklonales IL-8- (Hase) in Pufferlösung (mit Konservierungsmittel). Verschlüsselt und gekühlt aufbewahren: Bei 2–8°C bis zum Ablaufdatum haltbar. Bei entsprechender Lagerung beträgt die empfohlene Verbrauchsfrist nach dem Öffnen 30 Tage.

**LK8PZ:** 1 Behälter  
**LK8P1:** 1 Behälter

#### IL-8-Kalibratoren (L8PL, L8PH)

Zwei Fläschchen (niedrig und hoch) mit lyophilisiertem IL-8 in einer nicht-humanen Serummatrix (mit Konservierungsmittel). Fläschchen mit je **3,0 ml** destilliertem oder deionisiertem Wasser rekonstituieren. Aliquotieren und innerhalb bei –20°C von 3 Stunden nach Rekonstitution einfrieren. Nach Rekonstitution 6 Monate bei –20°C haltbar.

**LK8PZ:** 1 Set  
**LK8P1:** 1 Set

## Separat erhältliche Testsystem-Komponenten

#### Probenverdünner für den IL-8-Test (L8PZ)

Zum manuellen Verdünnen der Patientenproben. Ein Fläschchen (25 ml) mit IL-8 und IL-10-freier nicht-humaner Serummatrix mit Konservierungsmittel. 14 Tage nach dem Öffnen bei 2–8°C oder 6 Monate (aliquotiert) bei –20°C haltbar.

**LSUBX:** Chemilumineszenz-Substrat

**LPWS2:** Waschmodul

**LKPM:** Reinigungsmodul

**LCHx-y:** Halterungen für die Probenträger (mit Barcodierung)

**LSCP:** Probenträger (Einwegartikel)

**LSCC:** Verschlüsse für die Probenträger (optional)

**LILCM:** Kontrollmodul IMMULITE Cytokine (humaner Serum in zwei Konzentrationen).

Ebenfalls benötigt  
Transferpipetten für die Proben;  
destilliertes bzw. deionisiertes Wasser;  
Kontrollen.

## Testdurchführung

Für eine optimale Funktion des Gerätes ist unbedingt zu beachten, dass die Wartungen, wie im IMMULITE oder IMMULITE 1000-Handbuch beschrieben, regelmäßig durchgeführt werden.

Das Handbuch für das IMMULITE bzw. IMMULITE 1000 enthält die Anweisungen für: Vorbereitung, Geräteeinstellungen, Verdünnungen, Kalibrierung, Testdurchführung und Qualitätskontrollen.

Überprüfen Sie jedes Testeinheit auf das Vorhandensein der Polystyrol-Kugel vor dem Einsetzen in das Gerät.

**Empfohlenes Kalibrationsintervall:**  
2 Wochen.

**Proben zur Qualitätskontrolle:**

Kontrollen oder Poolseren mit IL-8 in mindestens zwei Konzentrationen (niedrig und hoch) verwenden.

**Referenzwerte**

In einer vorläufigen Studie des Herstellers basierend auf der Messung von 50 Seren gesunder Blutspender ergaben sich Werte im Bereich zwischen nicht detektierbar und 62 pg/ml.

Diese Grenzwerte sind lediglich als *Richtlinien* aufzufassen. Jedes Labor sollte seine eigenen Referenzbereiche etablieren.

**Grenzen der Methode**

Heterophile Antikörper in Humansenen können mit Immunglobulinen aus den Assaykomponenten reagieren und Interferenzerscheinungen innerhalb des in vitro Immunoassays verursachen. (Clin. Chem. 1988;34:27-33) Proben von Patienten, die häufig mit Tier- bzw. Tierserumprodukten zu tun haben, können die erwähnten Interferenzen verursachen und zu anomalen Resultaten führen. Die verwendeten Reagenzien sind so konzipiert, dass das Risiko einer Interferenz mit den zu messenden Proben minimiert ist. Dennoch können potentiell Interaktionen zwischen seltenen Seren und den Testkomponenten auftreten. Zu diagnostischen Zwecken sollten die mit dem Assay erhaltenen Ergebnisse immer in Kombination mit der klinischen Untersuchung, der Patientenanamnese und anderen Befunden gesehen werden.

**Leistungsdaten**

Siehe Tabellen und Grafiken mit *repräsentativen* Daten für den Assay. Die Ergebnisse sind als pg/ml ausgedrückt. (Alle Daten wurden – sofern nicht anders angegeben – aus Serumproben in

Röhrchen ohne Gelbarrieren oder gerinnungsfördernde Zusätze gewonnen.)

**Messbereich:** Bis 7 500 pg/ml (NIBSC 89/520).

**Analytische Sensitivität:** 2 pg/ml.

**Präzision im einzelnen Testansatz**

**(intraassay):** Statistik aus einem einzelnen Testansatz mit 20 Einzelmessungen (siehe Tabelle "Intraassay Precision").

**Präzision zwischen Testansätzen**

**(interassay):** Statistik aus 20 verschiedenen Testansätzen (siehe Tabelle "Interassay Precision").

**Linearität:** Proben wurden in verschiedenen Verdünnungen getestet. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle "Linearity".)

**Wiederfindung:** Die getesteten Proben waren mit drei (158, 386 und 8 000 pg/ml) IL-8-Lösungen 1:19 versetzt. (Repräsentative Daten entnehmen Sie bitte der Tabelle "Recovery".)

**Spezifität:** Hochspezifischer Anti-IL-8-Antikörper (siehe Tabelle "Specificity").

**Alternativer Probentyp:** Die Proben ( $n = 5$ ) wurden in unbehandelte, heparinisierte und EDTA-behandelte Vacutainer-Röhrchen gefüllt.

(EDTA) = 0,97 (Serum) + 13 pg/ml  
 $r = 1,00$

(Heparin) = 0,96 (Serum) – 17 pg/ml  
 $r = 1,00$

Mittelwert:  
3 403 pg/ml (Serum)  
3 339 pg/ml (EDTA)  
3 256 pg/ml (Heparin)

**Bilirubin:** Bilirubin hat in Konzentrationen bis zu 200 mg/l keinen Einfluss auf die Ergebnisse, der größer als die Impräzision des Assays selbst ist.

**Methodenvergleich:** Der Assay wurde unter Verwendung von 32 Patientenproben mit dem Milenia IL-8 Assay verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 19–6 700 pg/ml. Siehe Grafik. 1) Durch lineare Regression:

(IML) = 1,04 (Milenia) – 62 pg/ml  
 $r = 0,982$

Mittelwert:  
2 086 pg/ml (IMMULITE)  
2 070 pg/ml (Milenia)

Der Assay IMMULITE IL-8 (mono/poly, LK8P) wurde unter Verwendung von 30

Patientenproben mit dem IMMULITE IL-8 Assay (mono/mono, LKL8) von DPC verglichen. (Konzentrationsbereich ca. 11–7 258 pg/ml. Siehe Grafik. 2) Durch lineare Regression:)

(LK8P) = 0,92 (LKL8) – 8,2 pg/ml  
r = 0,996

Mittelwert:

1 756 pg/ml (LK8P)  
1 908 pg/ml (LKL8)

## Anwendungsberatung

Bei Rückfragen wenden Sie sich bitte an Ihre DPC Niederlassung.

Hergestellt von Euro/DPC Ltd. unter dem Qualitätssystem ISO 13485:2003.

---

## Español

---

### IMMULITE IL-8

**Utilidad del análisis:** Para su uso en el diagnóstico *in vitro* con los analizadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — para la medición cuantitativa de interleukina 8 (IL-8) en suero o el plasma con EDTA, como ayuda en el estudio de enfermedades inflamatorias.

Referencia: **LK8PZ** (50 tests)  
**LK8P1** (100 tests)  
Código del Test: **I8**  
Código de Color: **Naranja**

### Resumen y Explicación del Test

La Interleukina 8 (IL-8) es una proteína no glicosilada de peso molecular 8 kDa. Una de sus funciones bioquímicas más importantes es la de actuar como quimioatrayente para los neutrófilos. Debido a esta era conocida previamente como proteína activadora de neutrófilos (NAP-1),<sup>1</sup> factor activador de neutrófilos (NAF)<sup>2</sup> y factor quimiotáctico de neutrófilos derivado de monocitos (MDNCF).<sup>3</sup>

En un principio, la IL-8 se purificó de los monocitos los cuales se cree son la mayor fuente de la proteína.<sup>2,3,4,5</sup> Pero apareció que otros muchos tipos de células, como células endoteliales,<sup>6</sup> células epiteliales,<sup>7</sup> hepatocitos,<sup>7</sup> fibroblastos<sup>8</sup> y condrocitos, también pueden sintetizar IL-8. La

liberación de la proteína a partir de estas células puede ser iniciada por una gran variedad de estímulos que incluyen LPS, IL-1, TNF, virus y cristales de urea.<sup>9</sup>

La IL-8 es un miembro de la superfamilia de las quimiocinas, proteínas de pequeño peso molecular (8–10 kDa), que se conocen como citoquinas pro-inflamatorias. Además de su función biológica como quimioatrayentes, los miembros de esta familia de proteínas presentan una homología del 20–50% debido a su secuencia de aminoácidos y a un resto de cuatro cisteínas. Otras proteínas de este grupo son GRO $\alpha$ , RANTES, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IP-10, ENA-78, etc.<sup>10</sup>

Debido a sus propiedades biológicas, la IL-8 juega un papel crucial en muchos procesos inflamatorios. Por eso aparecen elevados niveles de IL-8 en varias enfermedades que incluyen psoriasis,<sup>11</sup> fibrosis quística,<sup>12</sup> fibrosis pulmonar idiopática,<sup>12</sup> enfermedad pleural<sup>12</sup> y artritis reumatoide.<sup>13</sup>

### Principio del análisis

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-8 es un ensayo inmunométrico con dos sitios de unión, quimioluminiscente en fase sólida.

**Ciclos de incubación:** 1 × 30 minutos.

### Recogida de la muestra

Se recomienda el uso de una ultracentrífuga para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida por el laboratorio; en este caso, los resultados deben interpretarse con precaución.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debidos a la presencia de fibrina, asegurarse que se ha formado el coágulo completamente antes de centrifugar las muestras. Algunas muestras, particularmente aquellas de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo de coagulación.

Los tubos para recoger sangre de distintos fabricantes pueden producir

valores diferentes, dependiendo del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de la coagulación y/o anticoagulantes. El IL-8 IMMULITE / IMMULITE 1000 no ha sido analizado con todos los distintos tipos de tubos. Para obtener detalles sobre los tipos de tubos que se han analizado, consulte la sección de Tipos de Muestras Alternativas.

**Volumen requerido:** 50 µl de suero o plasma.

(El recipiente de la muestra debe contener, como mínimo, 100 µl más que el volumen total requerido). Evitar la hemólisis; y separar el suero o plasma de las células dentro de las dos horas siguientes.<sup>15</sup>

**Conservación:** 2 días a 2–8°C o para almacenar por períodos más prolongados a –20°C.

### Advertencias y precauciones

Para uso diagnóstico *in vitro*.

**Reactivos:** Mantener a 2–8°C. Desechar de acuerdo con las normas aplicables.

Siga las precauciones universales y manipule todos los componentes como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Los materiales derivados de sangre humana han sido analizados y son negativos para sífilis; para anticuerpos frente al HIV 1 y 2; para el antígeno de superficie de hepatitis B y para los anticuerpos de hepatitis C.

Se ha usado Azida sódica, en concentraciones menores de 0,1 g/dl, como conservante. Para su eliminación, lavar con grandes cantidades de agua para evitar la constitución de residuos de azidas metálicas, potencialmente explosivas, en las cañerías de cobre y plomo.

**Sustrato quimioluminiscente:** evite la contaminación y exposición a la luz directa del sol. (Ver el prospecto.)

**Agua:** Use agua destilada o desionizada.

### Materiales Suministrados

Los componentes representan un juego completo. Las etiquetas incluidas en la caja son necesarias para el ensayo.

### Unidades de análisis de IL-8 (LL81)

Cada unidad etiquetada con código de barras contiene una bola recubierta de anticuerpos monoclonales murinos anti-IL-8. Estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad.

**LK8PZ:** 50 unidades

**LK8P1:** 100 unidades.

Espere a que las bolsas de las unidades de análisis alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlas. Ábralas cortando por el extremo superior, dejando el borde del cierre de cremallera intacto. Vuelva a cerrar las bolsas herméticamente para protegerlas de la humedad.

### Vial de reactivo de IL-8 (L8P2)

Con código de barras. 7,5 ml de fosfatasa alcalina (de intestino de ternera) conjugada con policlonal de conejo anti-IL-8 en solución tampón, con conservante. Guardar tapado y refrigerado: estable a 2–8°C hasta la fecha de caducidad. Se recomienda utilizarlo antes de que pasen 30 días después de abrirlo cuando se guarda según lo indicado.

**LK8PZ:** 1 vial. **LK8P1:** 1 vial.

### Ajustadores de IL-8 (L8PL, L8PH)

Dos viales (bajo y alto) de IL-8 liofilizada en un suero matriz no humano, con conservante. Reconstituya cada vial con **3,0 ml** de agua destilada o desionizada. Mezclar agitando suavemente de forma intermitente. Alicuotar y congelar a –20°C dentro de las tres primeras horas después de su reconstitución. Estable a –20°C durante 6 meses tras su reconstitución.

**LK8PZ:** 1 juego. **LK8P1:** 1 juego.

### Componentes del kit que se suministran por separado

#### Diluyente de muestra de IL-8 (L8PZ)

Para la dilución manual de muestras de pacientes. Un vial conteniendo 25 ml de un suero matriz no humano libre de IL-8 e de IL-10, con conservante. Estable a 2–8°C durante 14 días después de abrirse o durante 6 meses (aliquotado) a –20°C.

**LSUBX:** Sustrato quimioluminiscente

**LPWS2:** Lavado de sonda

**LKPM:** Kit de limpieza de sonda

**LCHx-y:** Soportes de recipientes de muestras (con códigos de barras)

**LSCP:** Recipientes de muestras

(desechables)

**LSCC:** Tapas para los recipientes de muestras (opcionales)

**LILCM:** Un módulo de control de citoquina (de dos niveles y basado en suero humano)

También necesarios

Pipetas de transferencia de muestras; agua destilada o desionizada; controles.

## Ensayo

Aviso: para obtener el funcionamiento óptimo, es importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del operador de IMMULITE o IMMULITE 1000.

Ver el Manual del Operador del IMMULITE o IMMULITE 1000 para: preparación, procesamiento, diluciones, ajuste, procedimientos de ensayo y control de calidad.

Inspeccionar visualmente cada unidad de reacción para asegurarse de que hay una bola antes de introducirla en el Sistema.

**Intervalo de ajuste recomendado:**  
2 semanas.

**Muestras de Control de calidad:** Use controles o pools de muestras con dos niveles diferentes, como mínimo, de IL-8 (bajo y alto).

## Valores esperados

Se analizaron muestras de 50 adultos aparentemente sanos con el procedimiento IMMULITE IL-8. El rango absoluto de estas muestras fue desde no detectable a 62 pg/ml.

Estos límites han de considerarse sólo como una guía. Cada laboratorio deberá establecer sus propios intervalos de referencia.

## Limitación

Los anticuerpos heterofílicos en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas de los componentes del ensayo provocando interferencias con los inmunoanálisis in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Las muestras de los pacientes que frecuentemente están

expuestos a animales o a productos séricos animales pueden presentar este tipo de interferencia que potencialmente ocasione un resultado anómalo. Estos reactivos han sido formulados para minimizar el riesgo de interferencia, no obstante, pueden darse interacciones anómalas entre sueros conflictivos y los componentes del ensayo. Con fines de diagnóstico, los resultados obtenidos con este ensayo siempre deben ser usados en combinación con el examen clínico, la historia médica del paciente y cualquier otro dato clínico relevante.

## Características analíticas

Para ver resultados *representativos* de las cualidades del ensayo, consulte las tablas y los gráficos. Los resultados se expresan en pg/ml. (A no ser que se indique lo contrario, todos los resultados fueron generados en muestras de suero recogidas en tubos sin geles o activadores de la coagulación.)

**Intervalo de calibración:** Hasta 7 500 pg/ml (NIBSC 89/520)

**Sensibilidad:** 2 pg/ml.

**Precisión intraensayo (dentro de una tanda):** Se han calculado datos estadísticos para las muestras a partir de los resultados de 20 replicados en una sola tanda. (Véase la tabla "Intraassay Precision").

**Precisión entre ensayos (de una tanda a otra):** Se han calculado datos estadísticos para las muestras analizadas en 20 tomas distintas. (Véase la tabla de "Interassay Precision").

**Linealidad:** las muestras fueron analizadas con varias diluciones. (Véase la tabla "Linearity" para resultados representativos).

**Recuperación:** Se han analizado las muestras cargadas 1 a 19 con tres soluciones (158, 386 y 8 000 pg/ml) de IL-8. (Ver la tabla "Recovery" para resultados representativos).

**Especificidad:** El anticuerpo es altamente específico para IL-8. (Véase la tabla "Specificity").

**Tipo de Muestra Alternativa:** Se han recogido muestras ( $n = 5$ ) en tubos Vacutainers sin anticoagulante y

heparinizados y en tubos Vacutainers con EDTA.

(EDTA) = 0,97 (Suero) + 13 pg/ml  
r = 1,00

(Heparina) = 0,96 (Suero) – 17 pg/ml  
r = 1,00

Medias:

3 403 pg/ml (Suero)  
3 339 pg/ml (EDTA)  
3 256 pg/ml (Heparina)

**Bilirrubina:** La presencia de bilirrubina, en concentraciones hasta 200 mg/l, no tiene ningún efecto sobre los resultados en términos de precisión.

**Comparación del método:** El ensayo se ha comparado con el Milenia IL-8 en 32 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente de 19 a 6 700 pg/ml. Véase el gráfico 1). Por regresión lineal:

(IML) = 1,04 (Milenia) – 62 pg/ml  
r = 0,982

Medias:

2 086 pg/ml (IMMULITE)  
2 070 pg/ml (Milenia)

El ensayo IMMULITE IL-8 (mono/poly, LK8P) se comparó también con IMMULITE IL-8 (mono/mono, LKL8) en 30 muestras de pacientes. (Intervalo de concentración: aproximadamente de 11 a 7 258 pg/ml. Véase el gráfico 2). Por regresión lineal:

(LK8P) = 0,92 (LKL8) – 8,2 pg/ml  
r = 0,996

Medias:

1 756 pg/ml (LK8P)  
1 908 pg/ml (LKL8)

## Asistencia técnica

Contactéese con su Distribuidor Nacional.

Fabricado por EURO/DPC Ltd. bajo un Sistema de Calidad acorde con la ISO 13485:2003.

---

## Français

---

### IMMULITE IL8

**Domaine d'utilisation :** dosage quantitatif de l'interleukine-8 (IL-8) dans le sérum ou le plasma EDTA. Ce test est réservé à un usage diagnostique *in vitro* avec l'Analyseur IMMULITE et de IMMULITE 1000 et

constitue une aide pour l'étude des maladies inflammatoires.

Référence catalogue : **LK8PZ** (50 tests), **LK8P1** (100 tests)

Code produit : **I8**

Code couleur : **rose foncé**

## Introduction

L'interleukine-8 (IL-8) est une protéine non-glycosylée d'une masse moléculaire de 8 kDa. L'une de ses fonctions biochimiques majeures est d'agir comme molécule chimiotactique pour les neutrophiles. En raison de cette propriété, l'IL-8 avait d'abord été appelée peptide-1 activateur des neutrophiles (NAP-1)<sup>1</sup> ; facteur activateur des neutrophiles (NAF)<sup>2</sup> ; et facteur chimiotactique dérivé de monocyte pour les neutrophiles (MDNCF).<sup>3</sup>

Initialement, l'IL-8 a été purifiée à partir des monocytes, tenus pour être une source majeure de cette protéine.<sup>2,3,4,5</sup> Mais, il s'avéra que de nombreux autres types cellulaires, comme les cellules endothéliales,<sup>6</sup> les cellules épithéliales,<sup>7</sup> les hépatocytes,<sup>7</sup> les fibroblastes<sup>8</sup> et les chondrocytes, pouvaient également synthétiser de l'IL-8. La sécrétion de cette cytokine par ces cellules peut être déclenchée par un large éventail de stimuli, comme le LPS, l'IL-1, le TNF, les virus et les cristaux d'urée.<sup>9</sup>

L'IL-8 est membre de la superfamille des chémokines, de petites protéines de 8 à 10 kDa, connues sous le nom de cytokines pro-inflammatoires. Hormis leur fonction biologique de substances chimiotactiques, ces protéines présentent une homologie de 20 à 50% de leur séquence d'acides aminés et un motif conservé de quatre cystéines. Les autres protéines appartenant à ce groupe sont les protéines GRO $\alpha$ , RANTES, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IP-10, ENA-78, etc.<sup>10</sup>

Par ses propriétés biologiques, l'IL-8 joue un rôle crucial dans de nombreux processus inflammatoires. A ce titre, des taux élevés d'IL-8 sont retrouvés dans plusieurs maladies comme le psoriasis,<sup>11</sup> la fibrose kystique,<sup>12</sup> la fibrose pulmonaire interstitielle diffuse,<sup>12</sup> les affections pleurales<sup>12</sup> et la polyarthrite rhumatoïde.<sup>13</sup>

## Principe du test

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-8 est un dosage chimiluminescent immunométrique, en deux étapes, en phase solide.

**Cycles d'incubation** : 1 × 30 minutes.

## Recueil des échantillons

Il est recommandé de clarifier les échantillons hyperlipémiques par ultracentrifugation.

Des échantillons hémolysés peuvent être révélateurs d'une préparation inadéquate du prélèvement avant son envoi au laboratoire; il faudra donc interpréter les résultats avec prudence.

La centrifugation des échantillons sériques avant la formation complète du caillot peut entraîner la présence de fibrine. Pour éviter les résultats erronés dus à la présence de fibrine, s'assurer de la formation complète du caillot avant de centrifuger les échantillons. Certains échantillons, en particulier ceux provenant de patients sous anti-coagulants, peuvent nécessiter un temps plus long pour la formation du caillot.

Des tubes pour prélèvements sanguins provenant de fabricants différents peuvent donner des résultats différents, selon les matériaux et additifs utilisés, y compris gels ou barrières physiques, activateurs de la coagulation et/ou anticoagulants. Le coffret IL-8 IMMULITE / IMMULITE 1000 n'a pas été testé sur tous les types de tubes possibles. Veuillez consulter le chapitre intitulé Autres Types d'Échantillons pour plus de renseignements sur les tubes qui ont été évalués.

**Volume nécessaire** : 50 µl de sérum ou de plasma.  
(L'unité-échantillon doit contenir au moins 100 µl de plus que le volume total nécessaire.) Éviter l'hémolyse. Séparer le sérum ou le plasma des cellules dans les deux heures.<sup>15</sup>

**Conservation** : 2 jours à +2°C/+8°C ou pour une conservation prolongée à -20°C.

## Précautions d'emploi

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

**Réactifs** : conserver les réactifs à +2/+8 °C. Éliminer les déchets conformément à la réglementation en vigueur.

Respecter les précautions d'emploi et manipuler tous les composants du coffret comme des produits potentiellement infectieux. Les réactifs dérivés de produits humains et utilisés dans ce coffret ont subi un test sérologique pour la Syphilis et des tests de dépistage pour les anticorps anti-VIH1 et 2, anti-VHC et pour l'antigène de surface de l'hépatite B, qui se sont tous avérés négatifs.

De l'azide de sodium à des concentrations inférieures à 0,1 g/dl a été ajouté comme conservateur ; lors de l'élimination, l'évacuer avec de grandes quantités d'eau pour éviter une accumulation d'azides métalliques explosifs dans les canalisations.

**Substrat chimiluminescent** : éviter toute contamination et l'exposition directe au soleil. (Voir notice).

**Eau** : utiliser de l'eau distillée ou désionisée.-

## Matériel fourni

Les composants de la trousse ne peuvent être utilisés que conjointement. Les étiquettes à l'intérieur du coffret sont nécessaires au dosage.

### Tests unitaires IL8 (L8P1)

Chaque unité à code-barre contient une bille revêtue d'un anticorps monoclonal murin anti-IL-8. Stable à +2/ +8°C jusqu'à la date de péremption.

**LK8PZ**: 50 unités. **LK8P1**: 100 unités.

Porter les sachets à température ambiante avant d'ouvrir. Ouvrir le sachet avec des ciseaux en préservant le dispositif de fermeture. Refermer les sachets pour les protéger de l'humidité.

### Cartouche à réactif IL8 (L8P2)

Avec code-barre. 7,5 ml de solution tamponnée de phosphatase alcaline (intestins de veau) conjuguée à un anticorps polyclonal de lapin anti-IL-8, avec conservateur. Conserver bouché et réfrigéré : stable à +2/ +8°C jusqu'à la date de péremption. À utiliser de préférence dans les 30 jours qui suivent l'ouverture, si les recommandations de

stockage sont respectées.  
**LK8PZ**: 1 cartouche. **LK8P1**: 1 cartouche.

#### **Ajusteurs IL8 (L8PL, L8PH)**

2 flacons (bas et haut) d'IL-8 lyophilisée dans une matrice sérique non humaine avec conservateur. Reconstituer chaque flacon avec **3,0 ml** d'eau distillée ou désionisée. Mélanger doucement. Aliquoter et congeler à  $-20^{\circ}\text{C}$  tout réactif non utilisé dans les trois heures qui suivent la reconstitution. Stable à  $-20^{\circ}\text{C}$  pendant 6 mois après reconstitution.  
**LK8PZ**: 1 jeu. **LK8P1**: 1 jeu.

#### **Composants du coffret fournis séparément**

##### **Diluant échantillon IL8 (L8PZ)**

Pour la dilution manuelle des échantillons de patients. Un flacon de 25 ml d'une matrice sérique non humaine sans IL-8 et IL-10, avec conservateur. Stable à  $+2^{\circ}\text{C}/+8^{\circ}\text{C}$  pendant 14 jours après ouverture ou 6 mois (aliquoté) à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

**LSUBX** : Substrat chimiluminescent

**LPWSM** : Solution de lavage

**LKPM** : Coffret de décontamination de l'aiguille de prélèvement

**LCHx-y** : Supports pour godets échantillons (avec code-barre)

**LSCP** : Godets échantillons (à usage unique)

**LSCC** : Bouchons pour godets échantillons (optionnel)

**LILCM**: Contrôle multiparamétrique IMMULITE Cytokines (à deux niveaux, à base de sérum humain).

Egalement requis

Pipettes pour le transfert des échantillons ; eau distillée ou désionisée ; contrôles.

#### **Protocole de dosage**

Noter que pour des performances optimales, il est important de réaliser toutes les procédures de maintenance de routine selon les instructions du Manuel d'Utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000.

Voir le manuel d'utilisation de l'IMMULITE ou de l'IMMULITE 1000 pour la préparation, le démarrage du système, les ajustements, le dosage et les procédures de contrôle de qualité.

Vérifier visuellement que chaque Unité-Test contient bien une bille avant de la charger dans l'automate.

**Intervalle d'ajustement recommandé** : 2 semaines.

**Echantillons pour le contrôle de qualité** : utiliser des Contrôles ou des pools d'échantillons avec au moins deux niveaux de concentration (faible ou élevé) de IL-8.

#### **Valeurs de référence**

Des échantillons provenant d'un total de 50 individus en bonne santé ont été dosés avec le test IMMULITE IL-8. Les valeurs obtenues allaient de non détectable à 62 pg/ml.

Utiliser ces valeurs à *titre indicatif* uniquement. Chaque laboratoire devra établir ses propres valeurs de référence.

#### **Limites**

Les anticorps hétérophiles du sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines faisant partie des composants du coffret et interférer avec les immunodosages in vitro. [Voir Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Les échantillons provenant de patients fréquemment exposés aux animaux ou aux produits sériques d'origine animale peuvent présenter ce type d'interférence pouvant potentiellement donner un résultat anormal. Ces réactifs ont été mis au point afin de minimiser le risque d'interférence, cependant des interactions potentielles entre des sérums exceptionnels et les composants du test peuvent se produire. Dans un but diagnostique, les résultats obtenus avec ce dosage doivent toujours être utilisés en association avec un examen clinique, l'histoire médicale du patient et d'autres résultats.

#### **Performances du test**

Consulter les tableaux et graphiques pour obtenir les données *représentatives* des performances du test. Les résultats sont donnés en pg/ml. (En l'absence d'indication contraire, tous les résultats ont été obtenus sur des échantillons sériques recueillis sur tubes sans anticoagulant, ni gel, ni activateur de la coagulation).

**Domaine de mesure :** jusqu'à 7 500 pg/ml (NIBSC 89/520)

**Sensibilité analytique :** 2 pg/ml

**Précision intra-dosage (au sein d'une même série) :** les statistiques ont été réalisées sur les résultats de 20 replicates d'échantillons dosés au cours d'une même série. (Voir le tableau « Intraassay Precision ».)

**Précision inter-dosage (entre plusieurs séries) :** les statistiques ont été réalisées sur des échantillons dosés dans 20 séries différentes (Voir le tableau « Interassay Precision ».)

**Test de dilution :** des échantillons ont été dosés à différentes concentrations. (Voir le tableau « Linearity » pour des données représentatives.)

**Test de récupération:** les échantillons testés ont été chargés dans un rapport de 1 à 19 avec trois solutions d'IL-8 (158, 386 et 8 000 pg/ml). (Voir le tableau « Recovery » pour des données représentatives.)

**Spécificité :** l'anticorps utilisé est hautement spécifique de l'IL-8. (Voir le tableau « Specificity ».)

**Autres types d'échantillons:** les échantillons ( $n = 5$ ) ont été prélevés sur tubes vacutainer secs, héparinés et EDTA.

(EDTA) = 0,97 (Sérum) + 13 pg/ml  
 $r = 1,00$

(Héparine) = 0,96 (Sérum) – 17 pg/ml  
 $r = 1,00$

Moyennes :  
3 403 pg/ml (Serum)  
3 339 pg/ml (EDTA)  
3 256 pg/ml (Héparine)

**Bilirubine :** La présence de bilirubine ne présente aucun effet sur les résultats ni sur la précision du dosage si la concentration ne dépasse pas 200 mg/l.

**Comparaison de méthodes:** le test a été comparé au test Milenia IL-8 sur 32 échantillons (intervalle de concentrations: 19 à 6 700 pg/ml. Voir graphique 1.) Par régression linéaire :

(IML) = 1,04 (Milenia) – 62 pg/ml  
 $r = 0,982$

Moyennes :  
2 086 pg/ml (IMMULITE)  
2 070 pg/ml (Milenia)

Le test IMMULITE IL-8 (mono/poly, LK8P) a aussi été comparé avec le dosage IMMULITE IL-8 (mono/mono, LKL8) sur 30 échantillons de patients (intervalle de concentrations: 11 à 7 258 pg/mL. Voir graphique 2.) Par régression linéaire :

(LK8P) = 0,92 (LKL8) – 8,2 pg/ml  
 $r = 0,996$

Moyennes :  
1 756 pg/ml (LK8P)  
1 908 pg/ml (LKL8)

## Assistance technique

En France distribué par DPC France 90  
bd National 92257 La Garenne-Colombes.

Fabriqué par EURO/DPC Ltd. dans le cadre d'un  
Système Qualité enregistré sous  
ISO 13485:2003.

---

## Italiano

---

### IMMULITE IL-8

**Uso:** Ad uso diagnostico *in vitro* con gli Analizzatori IMMULITE ed IMMULITE 1000 — per la misurazione quantitativa dell'Interleuchina 8 (IL-8) nel siero o nel plasma EDTA, quale ausilio nello studio delle malattie infiammatorie.

Codice: **LK8PZ** (50 test)  
**LK8P1** (100 test)

Codice del Test: **I8** Colore: **Rosa Scuro**

### Riassunto e Spiegazione del Test

L'interleuchina 8 (IL-8) è una proteina non glicosilata con un peso molecolare di 8 kDa. Una delle funzioni biochimiche più importanti è quella di agire come fattore di attivazione della migrazione dei neutrofili. In relazione a questa proprietà, l'IL-8 è stata precedentemente chiamata proteina di attivazione dei neutrofili (NAP-1),<sup>1</sup> fattore di attivazione dei neutrofili (NAF)<sup>2</sup> e fattore chemotattico neutrofilo derivato dai monociti (MDNCF).<sup>3</sup>

Inizialmente, l'IL-8 è stata purificata a partire dai monociti, presumibilmente la fonte principale della proteina.<sup>2,3,4,5</sup> Ma è stato dimostrato che molti altri tipi di cellule, come le cellule endoteliali,<sup>6</sup> le cellule epiteliali,<sup>7</sup> gli epatociti,<sup>7</sup> i fibroblasti<sup>8</sup> ed i condrociti, possono anche produrre

l'IL-8. Il rilascio della proteina da parte di queste cellule può aver origine da una varietà ampia di stimoli, incluso l'LPS, l'IL-1, il TNF, i virus, ed i cristalli di urato.<sup>9</sup>

L'IL-8 fa parte della superfamiglia delle chemiochine, piccole proteine da 8-10 kDa, che vengono chiamate citochine pro-infiammatorie. Oltre alla funzione biologica di fattore di attivazione della migrazione dei neutrofili, le componenti di queste proteine mostrano un'omologia del 20-50% in base alla sequenza degli aminoacidi ed un disegno a quattro cisteine. Altre proteine che appartengono a questo gruppo sono GRO $\alpha$ , RANTES, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IP-10, ENA-78, ecc.<sup>10</sup>

A causa delle proprietà biologiche, l'IL-8 esercita un ruolo critico in molti episodi infiammatori. Per questo motivo, i livelli dell'IL-8 vengono presi in considerazione in varie malattie, inclusa la psoriasi,<sup>11</sup> la fibrosi cistica,<sup>12</sup> la fibrosi idiopatica polmonare,<sup>12</sup> la pleurite<sup>12</sup> e l'artrite reumatoide.<sup>13</sup>

### Principio del Dosaggio

IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-8 è un dosaggio immunometrico in chemiluminescenza in fase solida a doppio sito.

**Cicli di Incubazione:** 1 × 30 minuti.

### Prelievo del Campione

Si consiglia l'utilizzo di un'ultracentrifuga per schiarire i campioni lipemici.

I campioni emolizzati possono indicare un trattamento non idoneo del campione prima dell'arrivo al laboratorio; per questo motivo, i risultati devono essere interpretati con prudenza.

La centrifugazione dei campioni di siero prima che la coagulazione sia completa può produrre fibrina. Per evitare risultati errati dovuti alla presenza di fibrina, assicurarsi che il processo di coagulazione sia completo prima di centrifugare i campioni. Alcuni campioni, in modo particolare quelli di pazienti sottoposti a terapia con anticoagulanti, possono richiedere tempi di coagulazione più lunghi.

Provette per il prelievo di sangue di produttori diversi possono dare valori

differenti, a seconda dei materiali e degli additivi usati, incluso gel o barriere fisiche, attivatori di coaguli e/o anticoagulanti. L'IMMULITE/IMMULITE 1000 IL-8 non è stato verificato con tutte le possibili variazioni di tipi di provette. Consultare la sezione riguardante Campioni Alternativi per dettagli sulle provette testate.

**Volume richiesto:** 50  $\mu$ L di siero o plasma.

(Il porta campioni deve contenere almeno 100  $\mu$ L più del volume totale richiesto). Evitare l'emolisi; e separare il siero o il plasma dalle cellule entro due ore.<sup>15</sup>

**Conservazione:** 2 giorni a 2-8°C o per una conservazione prolungata a -20°C.

### Avvertenze e Precauzioni

Ad uso diagnostico *in vitro*.

**Reagenti:** Conservare i reagenti a 2-8°C. Eliminare in conformità alle leggi vigenti.

Seguire le precauzioni generali e manipolare tutti i componenti come se fossero potenzialmente infetti. I materiali derivati dal sangue umano sono stati testati con esito negativo per la sifilide, gli anticorpi anti-HIV 1 e 2, l'Antigene di Superficie dell'Epatite B e gli anticorpi Anti-Epatite C.

E' stata aggiunta Sodio Azide a concentrazioni inferiori a 0,1 g/dL come conservante. Al momento dell'eliminazione, irrorare con molta acqua per evitare la formazione di azidi metalliche potenzialmente esplosive nelle tubature di piombo e di rame.

**Substrato Chemiluminescente:** Evitare la contaminazione e l'esposizione alla luce solare diretta. (Vedi metodica.)

**Acqua:** Utilizzare solo acqua distillata o deionizzata.

### Materiali Forniti

I componenti costituiscono un unico set. Le etichette all'interno della confezione sono necessarie per eseguire i dosaggi.

### Test Unit IL-8 (L8P1)

Ogni Test Unit con codice a barre contiene una sferetta coattata con un anticorpo monoclonale murino anti-IL-8. Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza.

**LK8PZ:** 50 unit. **LK8P1:** 100 unit.

Le confezioni delle Test Unit devono essere portate a temperatura ambiente prima dell'apertura. Aprire tagliando lungo il bordo superiore, lasciando intatta la chiusura ermetica. Risigillare le confezioni per proteggere le sferette dall'umidità.

#### **Porta Reagente IL-8 (L8P2)**

Con codice a barre. 7,5 mL di fosfatasi alcalina (intestino di vitello) coniugata con un anticorpo policlonale di coniglio anti-IL-8 in un tampone, con conservanti. Conservare nel frigorifero sigillato: stabile a 2–8°C fino alla data di scadenza. Si consiglia di utilizzare il prodotto entro 30 giorni dall'apertura se conservato nella maniera indicata.

**LK8PZ:** 1 Porta Reagente.

**LK8P1:** 1 Porta Reagente.

#### **Calibratori IL-8 (L8PL, L8PH)**

Due flaconi (Basso ed Alto) contenenti IL-8 liofilo, in una matrice di siero non umano con conservanti. Ricostituire ogni flacone con **3,0 mL** di acqua distillata o deionizzata. Mescolare con rotazione leggera ed intermittente. Aliquotare e congelare il materiale non utilizzato a –20°C entro 3 ore dalla ricostituzione. Stabile a –20°C per 6 mesi dopo la ricostituzione.

**LK8PZ:** 1 set. **LK8P1:** 1 set.

### **Componenti del Kit Forniti Separatamente**

#### **Diluente del Campione IL-8 (L8PZ)**

Per la diluizione manuale dei campioni dei pazienti. Un flacone 25 mL di una matrice di siero non umano priva di IL-8 ed IL-10, con conservanti. Stabile a 2–8°C per 14 giorni dopo l'apertura, o per 6 mesi (aliquotato) a –20°C.

**LSUBX:** Substrato Chemiluminescente

**LPWS2:** Tampone di Lavaggio dell'Ago

**LKPM:** Kit di Pulizia dell'Ago

**LCHx-y:** Vassoi Porta Campioni (con codice a barre)

**LSCP:** Porta Campioni (monouso)

**LSCC:** Coperchi per Porta Campioni (opzionali)

**LILCM:** Controllo Citochine IMMULITE, controllo umano a due livelli su base sierica.

Materiali richiesti

Pipette per la dispensazione dei campioni; acqua distillata o deionizzata; controlli.

### **Procedura del Dosaggio**

Attenzione: per avere prestazioni ottimali, è importante effettuare le procedure di manutenzione di routine cosiccome definito nel Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000.

Vedi il Manuale dell'Operatore IMMULITE o IMMULITE 1000 per: preparazione, setup, diluizione, calibrazione, dosaggio e controllo di qualità.

Controllate ogni test unit verificando la presenza della sferetta prima di caricarla sullo strumento.

#### **Intervallo di Calibrazione Consigliato:**

2 settimane.

#### **Campioni per il Controllo di Qualità:**

Utilizzare controlli o pool di sieri con almeno due livelli (alto e basso) di IL-8.

### **Valori Attesi**

Sono stati analizzati campioni da un totale di 50 individui sani con il dosaggio IMMULITE IL-8. Il range assoluto per questi campioni era tra non-rilevabile e 62 pg/mL.

Detti valori dovrebbero essere considerati solo come *suggerimento*. Ogni laboratorio dovrebbe stabilire i propri range di riferimento.

### **Limiti**

Gli anticorpi eterofili presenti nel siero umano possono reagire con le immunoglobuline presenti nelle componenti del dosaggio provocando un'interferenza con i dosaggi in vitro. [Vedi Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Campioni di pazienti routinariamente esposti agli animali o a prodotti derivati da siero di animali possono presentare questo tipo di interferenza causa potenziale di risultati anomali. Questi reagenti sono stati formulati per minimizzare il rischio di interferenze, tuttavia, possono verificarsi interazioni potenziali tra sieri rari e componenti del test. A scopo diagnostico, i risultati ottenuti con questo dosaggio devono sempre

essere utilizzati unitamente all'esame clinico, all'anamnesi del paziente e ad altre indagini di laboratorio.

### Prestazioni del Dosaggio

Vedi tavole e grafici per i dati *rappresentativi*. I risultati sono indicati in pg/mL. (Se non altrimenti previsto, tutti i risultati sono stati generati con campioni di siero raccolti in provette senza barriere di gel o additivi che favoriscano la formazione di coaguli.)

**Fattore di Calibrazione:** Fino a 7 500 pg/mL (NIBSC 89/520)

**Sensibilità Analitica:** 2 pg/mL

**Precisione Intra-Dosaggio (All'interno della stessa seduta):** Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 replicati in un'unica seduta (Vedi Tabella "Intraassay Precision").

**Precisione Inter-Dosaggio (Da una seduta all'altra):** Sono state calcolate statistiche per campioni dai risultati di 20 sedute diverse. (Vedi Tabella "Interassay Precision").

**Linearità:** Sono stati dosati campioni in varie forme diluite. (Vedi Tabella "Linearity" per dati rappresentativi.)

**Recupero:** Sono stati dosati campioni ai quali sono state aggiunte tre soluzioni (158, 386 e 8 000 pg/mL) 1:19 di IL-8. (Vedi Tabella "Recovery" per dati rappresentativi.)

**Specificità:** L'anticorpo è molto specifico per l'Interleuchina 8. (Vedi tabella "Specificity")

**Tipo di Campione Alternativo:** I campioni ( $n = 5$ ) sono stati raccolti in provette semplici, eparinizzate o vacutainer EDTA.

(EDTA) = 0,97 (Siero) + 13 pg/mL  
 $r = 1,00$

(Eparina) = 0,96 (Siero) – 17 pg/mL  
 $r = 1,00$

Valore Medio:  
3 403 pg/mL (Siero)  
3 339 pg/mL (EDTA)  
3 256 pg/mL (Eparina)

**Bilirubina:** La presenza di bilirubina in concentrazioni fino a 200 mg/L non ha nessun effetto sui risultati entro il range di precisione del dosaggio.

**Comparazione di Metodi:** Il dosaggio è stato comparato al Milenia IL-8 in 32 campioni dei pazienti. (Range di concentrazione: da 19 fino a 6 700 pg/mL. Vedi grafico 1.) Con regressione lineare:

(IML) = 1,04 (Milenia) – 62 pg/mL  
 $r = 0,982$

Valore Medio:  
2 086 pg/mL (IMMULITE)  
2 070 pg/mL (Milenia)

La procedura IMMULITE IL-8 (mono/poli, LK8P) è stata comparata anche al dosaggio IMMULITE IL-8 (mono/mono, LKL8) in 30 campioni dei pazienti. (Range di Concentrazione: circa da 11 a 7 258 pg/mL. Vedi grafico 2.) Con regressione lineare:

(LK8P) = 0,92 (LKL8) – 8,2 pg/mL  
 $r = 0,996$

Valore Medio:  
1 756 pg/mL (LK8P)  
1 908 pg/mL (LKL8)

### Assistenza Tecnica

All'estero: Si prega di contattare il proprio Distributore DPC Nazionale.

Prodotto dalla EURO/DPC Ltd. nell'ambito di un Sistema di Qualità Certificato ISO 13485:2003.

---

## Português

---

### Interleuquina 8

**Utilização:** Para uso diagnóstico *in vitro* nos analisadores IMMULITE e IMMULITE 1000 — para a medição quantitativa da interleuquina 8 (IL-8) no soro ou plasma EDTA, como auxiliar no estudo de doença inflamatórias.

Números de catálogo:  
**LK8PZ** (50 testes), **LK8P1** (100 testes)

Código do teste: **I8**  
Cor: **Rosa escuro**

### Sumário e explicação do teste

A Interleuquina 8 (IL-8) é uma proteína não-glicosilada com um peso molecular de 8KDA. Uma das suas mais importantes funções bioquímicas é actuar como um captante químico para neutrófilos. Devido a esta propriedade, a IL-8 foi denominada anteriormente proteína activante de neutrófilos (NAP-1),<sup>1</sup> factor activante de

neutrófilos (NAF)<sup>2</sup> e factor quimiostático de neutrófilos derivados de monócitos (MDNCF).<sup>3</sup>

Inicialmente, a IL-8 foi purificada dos monócitos que se acreditava ser uma principal fonte para a proteína.<sup>2,3,4,5</sup> Mas foi demonstrado que muitos outros tipos de células, como as células endoteliais,<sup>6</sup> células epiteliais,<sup>7</sup> e hepatócitos fibroblastos e condrócitos, podem também produzir IL-8. A libertação da proteína por essas células pode ser iniciada por uma ampla variedade de estímulos incluindo LPS, e IL-1, TNF, vírus e cristais de uratos.<sup>9</sup>

A IL-8 é membro da super família de quemocinas, pequenas proteínas de 8-10 kDa, que são referidas como citoquinas pro-inflamatórias. Além da sua função biológica como quimioatrativos, os membros dessas proteínas demonstram uns 20–50% de homologia baseado na sua sequência de aminoácidos e um modelo conservado de quatro - cisteínas. Outras proteínas que pertencem a esse grupo são GRO $\alpha$ , RANTES, MCP-1, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , IP-10, ENA-78, etc.<sup>10</sup>

Devido a essas propriedades biológicas, a IL-8 desempenha um papel crucial em muitos eventos inflamatórios. Por isso, os níveis elevados de IL-8 são reportados em várias doenças incluindo psoríase,<sup>11</sup> fibrose cística,<sup>12</sup> fibrose pulmonar idiopática, 2 doença pleural<sup>12</sup> e artrite reumatóide.<sup>13</sup>

### Princípio do procedimento

A Interleuquina 8 IMMULITE/IMMULITE 1000 é um ensaio imunométrico em fase sólida quimioluminescente de duas voltas.

**Ciclos de incubação:** 1 x 30 minutos.

### Colheita

Recomenda-se o uso de uma ultracentrífuga para clarear amostras lipémicas.

Amostras hemolisadas podem indicar tratamento incorrecto da amostra antes do envio para o laboratório; portanto os resultados devem ser interpretados com cuidado.

A centrifugação de amostras de soro antes da formação completa do coágulo pode resultar na presença de fibrina. Para

prevenir resultados errados devido à presença de fibrina, certifique-se que a formação do coágulo foi completa antes da centrifugação das amostras. Algumas amostras, em especial as de doentes que recebem terapia anticoagulante podem requerer um maior tempo de formação do coágulo.

Os tubos para colheita sanguínea de diferentes fabricantes, podem originar diferentes valores, dependendo dos materiais e aditivos, incluindo gel ou barreiras físicas, activadores do coágulo e/ou anti coagulantes.

IMMULITE/IMMULITE 1000 Interleuquina 8 não foram ainda testados com todas as possíveis variações originadas pelos tipos de tubos. Consultar a secção Tipos de Amostras Alternativas para obter detalhes sobre os tubos que foram testados.

**Volume de amostra:** 50  $\mu$ L soro o plasma. (Vaso de amostra deve conter um mínimo de 100  $\mu$ L a mais que o volume total exigido.) Evitar hemólise; e separar o soro ou plasma das células em menos de duas horas.<sup>15</sup>

**Estabilidade:** 2 dias a 2–8°C, ou para períodos mais longos de armazenamento a –20°C.

### Precauções

Para uso de diagnóstico *in vitro*.

**Reagentes:** Manter a 2–8°C. Elimine de acordo com as normas aplicadas.

Manipule com as devidas precauções todos os materiais capazes de transmitir doenças infecciosas. As matérias primas, obtidas de soro humano, foram testadas, revelando resultados negativos para a sífilis, para os anticorpos do vírus da imunodeficiência humana (HIV) 1 e 2; para o antígeno de superfície da hepatite B (HBsAg) e para os anticorpos do vírus da hepatite C.

Azida de sódio foi adicionada como conservante; para evitar acumulações de azidas metálicas explosivas em canalizações de cobre e alumínio, os reagentes devem ser rejeitados no esgoto apenas se estiverem diluídos e forem lavados com grandes volumes de água.

**Substrato quimioluminescente:** Evite contaminação e exposição à luz directa (ver bula).

**Água:** Utilize água destilada ou desionizada.

### **Materiais Fornecidos**

Os componentes formam um conjunto uno e indivisível. Os códigos de barras no interior das caixas são necessárias para o ensaio.

#### **Unidades de Teste de Interleuquina 8 (L8P1)**

Cada unidade identificada com código de barras contém uma pérola revestida com anticorpo monoclonal de rato anti-IL-8. Estável até a data de validade a 2–8°C.

**LK8PZ:** 50 unidades.

**LK8P1:** 100 unidades.

Antes de abrir as saquetas com Unidades de Teste, deixe que estas atinjam a temperatura ambiente. Corte as saquetas pela ranhura superior, mantendo o fecho intacto. Feche novamente as saquetas para proteger contra a humidade.

#### **Embalagem de Reagente de Interleuquina 8 (L8P2)**

Com código de barras. Contém 7,5 mL de fosfatase alcalina (de intestino bovino) conjugada com anticorpo policlonal de coelho anti-IL-8, em tampão, com conservante. Armazene tapado e refrigerado: Estável até à data de validade a 2–8°C. Recomenda-se a utilização até 30 dias após aberto quando armazenado de acordo com as indicações.

**LK8PZ:** 1 embalagem.

**LK8P1:** 1 embalagem.

#### **Ajustes Interleuquina 8 (L8PL, L8PH)**

Dois frascos (nível alto e baixo) de IL-8 liofilizada em matriz de soro não humana, com conservante. Reconstitua cada frasco com **3,0 mL** de água destilada ou desionizada. Misture com movimentos gentis e intermitentes. Aliquotar e congelar dentro de 3 horas após a reconstituição. Estável por 6 meses após a reconstituição a –20°C.

**LK8PZ:** 1 conjunto. **LK8P1:** 1 conjunto.

### **Componentes do kit fornecidos separadamente**

#### **Diluyente de amostra para Interleuquina 8 (L8PZ)**

Para a diluição manual de amostras de doentes. Um frasco com 25 mL de uma matriz de soro não humana livre de IL-8 e IL-10, com conservante. Estável, após a abertura, durante 14 dias a 2–8°C, ou por 6 meses (aliquotado) a –20°C.

**LSUBX:** Substrato quimioluminescente

**LPWS2:** Solução de lavagem

**LKPM:** Kit de limpeza do pipetador

**LCHx-y:** Suportes de cuvetes da amostra (com código de barras)

**LSCP:** Cuvetes da amostra (descartáveis)

**LSCC:** Tampa de vasos de amostra (opcional)

**LILCM:** Módulo de controlo de citoquinas IMMULITE (baseado em soro humano, de dois níveis).

Também necessário:

Pipetas de transferência de amostra; água destilada ou desionizada; controlos.

### **Procedimento do doseamento**

Têr em atenção que para obter um desempenho óptimo, é importante efectuar todos os procedimentos de manutenção de rotina conforme definido no Manual de Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000.

Ver o Manual do Operador do IMMULITE ou IMMULITE 1000 para: preparação, setup, diluições, ajustes, procedimento do ensaio e controlo de qualidade.

Confirme a presença da pérola em cada Unidade de Teste antes de a colocar no sistema.

**Intervalo entre ajustes aconselhável:**  
2 semanas.

#### **Amostras de controlo de qualidade:**

utilize controlos ou "pools" com, pelo menos, dois níveis (alto e baixo) de Interleuquina 8.

### **Valores de Referência**

Amostras de um total de cinquenta indivíduos saudáveis foram analisadas pelo procedimento IMMULITE IL-8. A faixa absoluta dessas amostras era de: não detectável a 62 pg/mL.

Considere estes limites apenas como *diretrizes*. Cada laboratório deve estabelecer os seus próprios valores de referência.

### Limitações

Os anticorpos heterófilos no soro humano podem reagir com as imunoglobulinas presentes no ensaio, causando interferência com os imunoenaios in vitro. [Ver Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. Clin Chem 1988;34:27-33.] Amostras de doentes expostas em rotina a produtos ou soros de animais podem demonstrar este tipo de interferência, potencial causador de resultados anómalos. Estes reagentes foram formulados para minimizar o risco de interferência, contudo podem ocorrer potenciais interações entre soros (raros) e componentes do teste. Para fins de diagnóstico, os resultados obtidos neste ensaio devem ser sempre analisados em combinação com o exame clínico, história de medicação do doente e outros achados que possam correlacionar.

### Características do ensaio

Ver tabelas e gráficos para dados representativos da performance do doseamento. Os resultados são apresentados em pg/mL. Salvo referência em contrário, todos os dados provêm de amostras de soro colhidas em tubos sem anticoagulantes, barreiras de gel ou aditivos promotores da coagulação.)

**Calibração:** Até 7 500 pg/mL (NIBSC 89/520)

**Sensibilidade Analítica:** 2 pg/mL

**Precisão Intra-ensaio (Entre ensaios):** Estatísticas foram calculadas para amostras dos resultados de 20 réplicas num único ensaio. (Ver a tabela de "Intraassay Precision")

**Precisão Inter-ensaio (Ensaio a ensaio):** Estatísticas foram calculadas para amostras doseadas em 20 ensaios diferentes. (Ver a tabela de "Interassay Precision.")

**Linearidade:** As amostras foram doseadas sob vários níveis de diluição. (Ver a tabela de "Linearity" para dados representativos.)

**Recuperação:** Às amostras foram adicionadas na relação de 1 para 19 com três soluções (158, 386 e 8 000 pg/mL) de IL-8 antes do doseamento. (Ver tabela de "Recovery" para dados representativos.)

**Especificidade:** O doseamento é específico para interleukin 8. (Ver tabela de "Specificity".)

**Tipo de amostra alternativa:** As amostras ( $n = 5$ ) foram extraídas para tubos de contenção a vácuo EDTA, heparinizados e simples.

(EDTA) = 0,97 (Soro) + 13 pg/mL  
 $r = 1,00$

(Heparina) = 0,96 (Soro) – 17 pg/mL  
 $r = 1,00$

Médias:  
3 403 pg/mL (Soro)  
3 339 pg/mL (EDTA)  
3 256 pg/mL (Heparina)

**Bilirrubina:** A presença de bilirrubina em concentrações até 200 mg/L não tem efeito nos resultados, dentro da precisão do ensaio.

**Comparação de métodos:** O doseamento foi comparado ao Milenia IL-8 em 32 amostras de doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 19 a 6 700 pg/mL. Ver gráfico 1.) Regressão linear:

(IML) = 1,04 (Milenia) – 62 pg/mL  
 $r = 0,982$

Médias:  
2 086 pg/mL (IMMULITE)  
2 070 pg/mL (Milenia)

O procedimento IMMULITE IL-8 (mono/poli, LK8P) foi também comparado com o doseamento IMMULITE IL-8 (mono/mono, LKL8) em amostras de 30 doentes. (Zona de trabalho: aproximadamente 11 to 7 258 pg/mL. Ver gráfico 2.) Regressão linear:

(LK8P) = 0,92 (LKL8) – 8,2 pg/mL  
 $r = 0,996$

Médias:  
1 756 pg/mL (LK8P)  
1 908 pg/mL (LKL8)

### Assistência Técnica

Por favor contacte o seu Distribuidor Nacional.

Fabricado pela EURO/DPC Ltd. de acordo com o Sistema de Qualidade registado segundo a norma ISO 13485:2003.

**EURO/DPC** LTD

Glyn Rhonwy  
Llanberis, Gwynedd LL55 4EL  
United Kingdom

**DPC**®

Diagnostic Products Corporation  
Corporate Offices  
5210 Pacific Concourse Drive  
Los Angeles, CA 90045-6900  
USA

2005-05-16

PILK8P – 10



EC REP DPC Biermann GmbH  
61231 Bad Nauheim  
Germany  
+49 -6032-994-00